

Freie Universität Berlin
Fachbereich Veterinärmedizin
Fachrichtung Mikrobiologie

Untersuchungen zur experimentellen Übertragung und Diagnose der Felines Infektiösen Peritonitis (FIP)

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Cornelia Kley
Tierärztin aus Berlin

Berlin 1976
Journal Nr. 894



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548818_0061

Untersuchungen zur experimentellen Übertragung und Diagnose der Felines Infektiösen Peritonitis (FIP)

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Cornelia Kley
Tierärztin aus Berlin

Berlin 1976

Journal Nr. 894

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Vorsitzender des FBR:

Prof. Dr. H.-H. Frey

Referent:

Prof. Dr. E. Hellmann

Korreferent:

Prof. Dr. E. Lettow



Tag der Promotion: 12.11.1976

Meiner Mutter in Dankbarkeit gewidmet

I n h a l t s v e r z e i c h n i s

	Seite
I. Einleitung	7
II. Literaturübersicht	8
1. Geschichtliches	8
2. Vorkommen und Verbreitung	8
3. Wirtsspektrum	9
4. Übertragungsweise	9
5. Klinisches Erscheinungsbild	12
6. Pathologisch-anatomische und -histologische Befunde	16
7. Diagnose und Differentialdiagnose	18
8. Therapie und Prophylaxe	20
9. Bisherige Kenntnisse zur Ätiologie der FIP	21
III. Eigene Untersuchungen	26
MATERIAL UND METHODE	26
1. Versuchsplanung	26
2. Versuchstiere	26
3. Übertragungsversuche auf Katzen	27
3.1. Vermehrung des Ausgangsmaterials	27
3.2. Infektion mit unbehandelten Substraten	28
3.3. Infektion mit behandeltem Exsudat	29
4. Übertragungsversuche auf Hamster und Mäuse	29
5. Anzüchtungsversuche in Zellkulturen	30
6. Anzüchtungsversuche in Eiern und Hämagglutinationstest	31
7. Immunfluoreszenz	32
8. Komplementbindungsreaktion	32
9. Herstellung von Immunsereen	33
9.1. Immunisierungsmodus	33
9.2. Immunisierung mit ungereinigtem Antigen	34
9.3. Immunisierung mit partiell gereinigtem Antigen	34
9.4. Absättigungsverfahren	35

10. Doppelte zweidimensionale Immundiffusion	
nach Ouchterlony	36
10.1. Diffusionstest mit unbehandeltem Antigen	36
10.2. Diffusionstest mit Detergenz behandeltem Antigen	37
10.2.1. Kreuzreaktionsversuche mit Transmissible Gastroenteritis-Virus-Antigen und -Antiserum	37
10.2.2. Anti-FIP-Seren gegen FIP-Antigen	37
11. Einfache radiale Immundiffusion nach Mancini	38
12. Immunelektrophorese	39
ERGEBNISSE	40
1. Versuche zur Übertragung und Anzüchtung	40
1.1. Übertragungsversuche auf Katzen	40
1.1.1. Generelle Infektiosität	40
1.1.2. Infektion mit unbehandelten Substraten	40
1.1.3. Infektion mit behandeltem Exsudat	42
1.1.4. Sekundärkeime	43
1.1.5. Krankheitsbild der experimentell infizierten Tiere	43
1.1.6. Pathologische Untersuchung	48
1.2. Übertragungsversuche auf Hamster und Mäuse	51
1.3. Anzüchtungsversuche in Zellkulturen	52
1.4. Anzüchtungsversuche in Eiern	53
1.5. Zusammenfassende Betrachtung der Übertragungs- und Anzüchtungsversuche	53
2. Versuche zur Auffindung diagnostischer Methoden	54
2.1. Immunfluoreszenz	54
2.2. Komplementbindungsreaktion	54
2.3. Partielle Reinigung des Antigens	55
2.4. Immundiffusion und Immunelektrophorese mit Antigen ohne Detergenzbehandlung	57
2.5. Immundiffusion mit Detergenz behandeltem Antigen	62
IV. Diskussion	66
V. Zusammenfassung	72
VI. Summary	74
VII. Literaturverzeichnis	75

I. Einleitung

Die Feline Infektiöse Peritonitis (FIP) ist eine akut bis chronisch verlaufende, vermutlich virusbedingte Infektionskrankheit der Feliden mit einer geringen Morbiditäts-, aber einer hohen Mortalitätsrate. Sie ist durch das Auftreten eines serofibrinösen Aszites und hohes Fieber charakterisiert. Außerdem werden auch Brusthöhlenergüsse und granulomatöse Veränderungen an den serösen Häuten, den Organparenchymen und am Auge beobachtet.

Das Gefäßsystem spielt im Infektionsablauf offensichtlich eine zentrale Rolle. Deshalb wurde die Feline Infektiöse Peritonitis anfangs auch "systemic proliferative and exudative vasculitis" (FELDMANN und JORTNER, 1964) genannt. Andere Bezeichnungen waren "chronic fibrinous peritonitis" (HOLZWORTH, 1963) und "peritonitis chronica myxomatosa" (BAUMANN, 1960).

Seit der Erstbeschreibung der FIP als einheitliches Krankheitsbild durch WOLFE und GRIESEMER (1966) nehmen die Berichte über das Auftreten dieser Infektionskrankheit zu. So wurden auch 1973 und 1974 in der Klinik für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin zwei Katzen vorgestellt, bei denen der Verdacht auf FIP bestand. Da der Erreger bisher noch nicht isoliert werden konnte, ist eine Diagnosestellung lediglich an Hand der klinischen Erscheinungen sowie der pathologisch-anatomischen und -histologischen Veränderungen möglich.

Aufgabe vorliegender Arbeit war deshalb, durch Übertragungsversuche auf Katzen die Infektiosität dieser zwei Bauchhöhlenexsudate zu überprüfen. Außerdem sollten verschiedene Wirtssysteme hinsichtlich ihrer Empfänglichkeit für den Erreger der FIP getestet werden. Weiterhin war geplant, eine Methode zur virologisch-serologischen Diagnosestellung zu erarbeiten.

II. Literaturübersicht

1. Geschichtliches

Die pathologischen Veränderungen gaben der Feline Infektiösen Peritonitis (FIP) ihren Namen. Als älteste Beschreibung der FIP ist die von BAUMANN (1960) gemachte Erwähnung einer "peritonitis chronica myxomatosa" bei einer Katze zu werten. HOLZWORTH (1963) erwähnte ein mit der FIP offenbar identisches Krankheitsbild unter dem Begriff "chronic fibrinous peritonitis" und FELDMANN und JORTNER (1964) faßten sie unter der Bezeichnung "feline systemic proliferative and exudative vasculitis" zusammen.

WOLFE und GRIESEMER (1966) beschrieben als erste die FIP als einheitliches Krankheitsbild. Sie berichteten über das Vorkommen der Erkrankung bei 16 Katzen und erbrachten durch experimentelle Übertragung auf Katzen den Nachweis ihrer Infektiosität. ROBISON, HOLZWORTH und GILMORE (1971) registrierten schon 1953 ein Auftreten der FIP in ihren Sektionen, erkannten jedoch erst später, daß es sich um eine selbständige Krankheit handelte.

2. Vorkommen und Verbreitung

Berichte über das Auftreten der Feline Infektiösen Peritonitis liegen bisher vor aus den USA (WOLFE und GRIESEMER, 1966), England (INGRAM, 1970), Kanada (STEVENSON, TILT und PURDY, 1971), Japan (KONISHI, TAKAHASHI und OGATA, 1971), Südafrika (zit.nach ROBISON, HOLZWORTH und GILMORE, 1971), den Niederlanden (MIEOG und RICHTER, 1971), Irland (HARTIGAN und WILSON, 1972), der Schweiz (STÜNZI und GREVEL, 1973), Australien (JONES und HOGG, 1974) und Deutschland (TUCH, WITTE und WÜLLER, 1974).

Deshalb kann angenommen werden, daß die FIP weltweit vorkommt; ihre regionale Ausbreitungstendenz ist jedoch gering.

3. Wirtsspektrum

Spontan auftretende Fälle von Feliner Infektiöser Peritonitis sind vorwiegend bei jungen Katzen innerhalb der ersten drei Lebensjahre beobachtet worden (HOLZWORTH, 1963; WOLFE und GRIESEMER, 1966; WARD und PEDERSON, 1969; INGRAM, 1970). Neben dem Auftreten der Erkrankung bei Haus- und Edelkatzen wurde auch über das Vorkommen bei wilden Feliden berichtet. Es handelte sich dabei um Leoparden, Löwen, Karakals, Nordluchse und einen Jaguar aus verschiedenen zoologischen Gärten.

Bei experimenteller Infektion sind Feliden jeden Alters empfänglich. Einige Autoren beobachteten, daß männliche Tiere häufiger als weibliche von der Krankheit befallen werden (WOLFE und GRIESEMER, 1966; COLGROVE und PARKER, 1971; ROBISON, HOLZWORTH und GILMORE, 1971), und nach WOLFE und GRIESEMER (1966) soll eine Prädisposition für Edelkatzen bestehen. Aus den meisten Berichten geht jedoch keine Geschlechts- oder Rassendisposition hervor.

Die FIP wurde bisher weder unter natürlicher noch unter experimenteller Infektionsbedingung bei anderen Tierarten beobachtet.

4. Übertragungsweise

Der natürliche Infektionsweg ist noch unbekannt. Die Morbidität ist offenbar gering, denn meist erkranken nur einzelne Tiere eines Bestandes, die mit ihnen in Kontakt lebenden weisen oft keine klinischen Krankheitserscheinungen der FIP auf. Hingegen haben WARD und PEDERSON (1969) beobachtet, daß ein vollständiger Wurf Hauskatzen von FIP befallen wurde und daran starb. ROBISON, HOLZWORTH und GILMORE (1971) berichteten von einem Siamesenbestand in Illinois, dem 30 Katzen unterschiedlichen Alters angehörten und in dem vereinzelt respiratorische Erkrankungen auftraten. Nachdem ein 15 Monate alter

Kater und eine einjährige Katze an FIP gestorben waren, erkrankten innerhalb von vier Monaten drei weitere Tiere und gingen daran zugrunde.

Im Rotterdamer Tiergarten "Blijdorp" erkrankten 1970 zwei Karakals und zwei Nordluchse an FIP. Vier Jahre später beobachteten TUCH, WITTE und WÜLLER (1974) die Erkrankung bei zwei Leoparden einer zu Dressurzwecken aus Jungtieren zusammengestellten Raubtiergruppe im Raum Hannover. Die Elterntiere der Leoparden stammten aus dem Tiergarten "Blijdorp".

TUCH, WITTE und WÜLLER (1974) nahmen an, daß Mesenchymzellen im subserösen Bindegewebe und an der Gefäßwandung den Angriffspunkt des infektiösen Agens bilden. MONTALI und STRANDBERG (1972) vermuteten ebenfalls, daß nekrotische und proliferative Prozesse in den Gefäßparenchymen ihren Ausgang nehmen und durch Gefäßläsion eine Verbreitung auf hämatogenem oder lymphogenem Weg erfolgt.

Experimentell läßt sich FIP durch intraperitoneale, subkutane, intravenöse und orale Infektion mit Organmaterial oder Exsudat an FIP erkrankter Tiere auf Katzen übertragen. Übertragungsversuche gelangen mit frischem sowie bei -20°C oder -70°C gelagertem, unfiltriertem Bauchhöhlenexsudat, Organverreibungen aus Milz, Leber, Netz und Lymphknoten, heparinisiertem Blut und Urin (WOLFE und GRIESEMER, 1966; DISQUE, CASE und YOUNGREN, 1968; WARD et al., 1968; HARDY und O'REILLY, 1969; WARD und PEDERSON, 1969; INGRAM, 1970; HARDY und HURVITZ, 1971; KONISHI, TAKAHASHI und OGATA, 1971; WARD, GRIBBLE und DUNGWORTH, 1974).

Nach Berichten von HARDY und HURVITZ (1971) gelang die Übertragung der FIP durch intraperitoneale Infektion mit frischem sowie bei -70°C gefroren gehaltenem Exsudat, mit Blut und Organverreibungen aus Milz, Leber und Netz, durch subkutane Infektion mit Exsudat, durch intravenöse Infektion mit Blut und durch orale Infektion mit Urin an FIP erkrankter Tiere.

Bei den Übertragungsversuchen mit Exsudat erkrankten bei intraperitonealer Infektion von 17 mit frischem Exsudat infizierten Tieren 15, von 10 mit zuvor gefroren gehaltenem Exsudat lediglich vier Tiere und bei der subkutanen Infektion mit frischem Exsudat von vier Tieren drei. Von drei intraperitoneal mit Leberverreibung infizierten Tieren erkrankten zwei, mit Milz- und Netzverreibungen gelangen alle Übertragungsversuche.

ZOOK et al. (1968) übertrugen FIP mit einem Exsudat, das zuvor durch Filter mit einer Porengröße von 450 nm und 200 nm gegeben wurde. WARD et al. (1968) gelangen Übertragungen mit Organmaterial, das 200 nm- und 100 nm-Filter passiert hatte. Auch TUCH, WITTE und WÜLLER (1974) konnten bei einer Katze die Erkrankung durch intraperitoneale Injektion einer 2 ml-Suspension aus Netz und Leber sowie Peritonealflüssigkeit, die ein 200 nm-Filter passiert hatte, hervorrufen.

RUBIN, POTE und CIMPRICH (1974) gelang es, durch Infektion mit Organmaterial von Katzen, bei denen die Augenveränderungen klinisch im Vordergrund standen und kein Aszites ausgebildet war, in Versuchstieren die peritoneale Form der FIP hervorzurufen. Sie schlossen daraus, daß die unterschiedlichen Formen der Erkrankung auf ein und dasselbe infektiöse Agens zurückzuführen sind.

WARD, GRIBBLE und DUNGWORTH (1974) wiesen durch unterschiedliche Applikationsarten von infektiösem Material nach, daß die Organmanifestation von dem Ort der Inokulation abhängig ist. So führte eine intrapleurale Inokulation zu einer granulomatösen Pleuritis. Die intracerebrale Inokulation rief Enzephalitis hervor. Die intravenöse Inokulation induzierte Gefäßläsionen, und intranasale Inokulation resultierte in einer diffusen, granulomatösen Pneumonie. Die Autoren folgerten daraus, daß auch bei natürlicher Infektion eine Relation bestehen kann zwischen der Verteilung der Organmanifestation

und der Art und Weise, in der das Tier zuvor mit dem Virus in Kontakt gekommen ist.

5. Klinisches Erscheinungsbild

Die Inkubationszeit bei natürlicher Infektion ist unbekannt. HARDY und O'REILLY (1969) sowie HARDY und HURVITZ (1971) vermuteten, daß sie bei spontan erkrankten Tieren ca. vier Monate beträgt, denn von drei in einem Haushalt lebenden Katzen erkrankten zwei vier Monate, nachdem die erste Katze Anzeichen dieser Erkrankung gezeigt hatte. Bei experimenteller Infektion wurden in Abhängigkeit der Infektionsrouten sowie der Menge und Herkunft des verwendeten Materials unterschiedliche Inkubationszeiten beobachtet. So gelang es HARDY und HURVITZ (1971), die Inkubationszeit durch vier Passagen von 33 Tagen in der ersten Passage auf neun in der letzten zu verkürzen. WARD und PEDERSON (1969) berichteten, daß nach experimenteller Infektion der erste Fieberanstieg innerhalb der ersten sieben Tage p.i. lag. Die Krankheit nimmt offenbar einen kürzeren Verlauf als bei Spontanfällen.

An FIP erkrankte Tiere zeigen hohes Fieber ($39,7^{\circ}$ - $41,1^{\circ}$ C) und Aszites, eine teilweise oder vollständige Anorexie, allmählichen Gewichtsverlust sowie zunehmende Apathie. In Fällen, in denen gleichzeitig eine Pleuritis auftritt, ist Dyspnoe ein auffälliges Symptom. Sowohl Diarrhoe als auch Obstipation treten gelegentlich auf. Je nach Menge des Exsudates ist die Undulation mehr oder weniger stark; eine Schmerzäußerung bei Palpation ist jedoch nicht feststellbar. In vielen Fällen werden Ikterus, Periorchitis und Orchitis als Begleiterscheinungen erwähnt (HOLZWORTH, 1963; WOLFE und GRIESEMER, 1966; DISQUE, CASE und YOUNGREN, 1968; HARDY und O'REILLY, 1969; WARD und PEDERSON, 1969; INGRAM, 1970; COLGROVE und PARKER, 1971; ROBISON, HOLZWORTH und GILMORE, 1971; WARD, B.C., 1971).

Über den Temperaturverlauf während der Erkrankung bestehen unterschiedliche Angaben. STÜNZI und GREVEL (1973) sowie TUCH, WITTE und WÜLLER (1974) beobachteten eine zweigipflige Temperaturkurve, deren erster Höhepunkt ca. 2 - 7 Tage p.i. und deren zweiter zwischen dem 10. und 13. Tag p.i. liegen kann. WARD und PEDERSON (1969) vermuteten eine Abhängigkeit des Temperaturverlaufs zu den Veränderungen der Leukozytenwerte. Sie beobachteten, daß kurz nach Beginn des Fiebers die Leukozytenwerte schwach erhöht sind und dann innerhalb von ein oder zwei Tagen bis unterhalb des Normalwertes fallen. Während dieser Zeit steigt die Temperatur konstant bis ca. 4. - 6. Tag p.i., sinkt dann langsam ab und fällt schnell kurz vor dem Tod. Die Leukozytenwerte erreichen während des langsamen Temperaturabfalls ihren Höchstwert und verringern sich dann ebenfalls rapide mit schnellerem Temperaturabfall.

Die Angaben über die Veränderungen des Blutbildes sind unterschiedlich. Es liegt zum Teil daran, daß die Differentialblutbilder an verschiedenen Tagen p.i. bestimmt wurden. Von den meisten Autoren wurden jedoch eine Verringerung der Erythrozyten, Leukozytose, oft mit einer Linksverschiebung und Lymphopenie, sowie Monozytose beobachtet (WOLFE und GRIESEMER, 1966; DISQUE, CASE und YOUNGREN, 1968; HARDY und O'REILLY, 1969; WARD und PEDERSON, 1969; MIEOG und RICHTER, 1971; TUCH, WITTE und WÜLLER, 1974). Im Gegensatz dazu wurde aber auch das Auftreten einer Leukopenie beschrieben (WOLFE und GRIESEMER, 1966; WARD und PEDERSON, 1969).

Untersuchungen der Leberenzymwerte wurden von mehreren Autoren durchgeführt. STÜNZI und GREVEL (1973) fanden Erhöhungen der Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) und Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) sowie eine Erniedrigung der alkalischen Phosphatase. Bei einer einjährigen Katze lagen 15 Tage p.i. die Werte von GPT bei 66,5 mU (milli Units) gegenüber 8,9 mU beim Kontrolltier, von GOT bei 40,3 mU gegenüber 12,7 mU und von alkalischer Phosphatase bei 5,6 mU gegenüber 54,0 mU beim

Kontrolltier. DISQUE, CASE und YOUNGREN (1968) dagegen beobachteten nur einen geringen Anstieg von GPT, während der Wert der alkalischen Phosphatase im Normalbereich lag.

Das Exsudat ist zu Beginn des Krankheitsprozesses gewöhnlich gelb bis bernsteinfarben, zähflüssig und gering an Volumen. Im fortgeschrittenen Stadium verliert es seine Viskosität und wird wässriger, voluminöser und heller. Es enthält Fibrinflocken und gerinnt häufig an der Luft. HARDY und O'REILLY (1969) berichteten von einem 8 Monate alten Kater, bei dem das Exsudatvolumen 300 ml betrug und einen pH-Wert von 6,8 hatte. Der Brechungsindex liegt laut Angaben von WARD und PEDERSON (1969) zwischen 1.3428 und 1.3492. Kennzeichnend für das Exsudat sind außerdem sein hohes spezifisches Gewicht (1,017 - 1,027) sowie sein hoher Proteingehalt. WARD und PEDERSON (1969) bestimmten die Proteinfractionen im Serum und Exsudat einer zweijährigen Katze und erfaßten sie tabellarisch in ihrer Arbeit "Infectious Peritonitis in Cats".

Tab. 1: aus WARD und PEDERSON (1969):
"Infectious Peritonitis in Cats"
Erläuterung siehe Text

Protein	Serum g%	Exsudat g%	Serum Normalkatze g%
Gesamtprotein	8.3	6.8	5.4 - 7.3
Albumin	1.4	1.3	2.1 - 3.3
Globulin	6.9	5.6	2.6 - 5.1
Alpha 1	0.4	0.4	0.2 - 1.1
Alpha 2	1.3	0.9	0.4 - 0.9
Beta 1	0.4	0.3	0.3 - 0.9
Beta 2	0.4	0.4	0.6 - 1.0
Gamma 1	1.7	1.1	0.3 - 2.5
Gamma 2	2.7	2.5	1.4 - 1.9
Verhältnis A:G	0.20	0.23	0.45 - 1.19

Nach Meinung von WARD und PEDERSON (1969) läßt die Höhe des Proteingehaltes in Serum und Exsudat darauf schließen, daß es sich bei dem Exsudatprotein im wesentlichen um einen direkten Erguß des unveränderten Serumproteins aus dem Blutstrom in die Bauchhöhle handelt. Im Vergleich zu den Serum-Normalwerten ist eine Hyperglobulinämie deutlich erkennbar, die in erster Linie aus der Erhöhung der Gamma 2-Globuline resultiert.

Zu den bisher im Exsudat nachgewiesenen Zellen gehören neben Lymphozyten und neutrophilen Granulozyten auch Erythrozyten, Mesothelzellen, Makrophagen und Fibroblasten (HARDY und O'REILLY, 1969; WOLFE und GRIESEMER, 1971; STÜNZI und GREVEL, 1973). HARDY und O'REILLY (1969) zählten bei einem acht Monate alten Kater 6.000 Leukozyten/mm³, wobei die prozentuale Verteilung bei 23 % neutrophilen Granulozyten, 76 % Lymphozyten und 1 % Monozyten lag. Die Granulozyten waren zu 20 % segmentkernig. Im Gegensatz dazu lag der Wert der Leukozyten im Blutbild desselben Tieres bei 9.700/mm³, wobei 87 % neutrophile Granulozyten, 12 % Lymphozyten und 1 % Monozyten waren. Der Anteil der segmentkernigen Granulozyten lag bei 58 %.

Neben der klassischen Form der FIP wurde von SLAUSON und FINN (1972) eine "second form of FIP", "nonperitoneal FIP" bzw. "brain and eye form of FIP" beschrieben, die klinisch in erster Linie durch bilaterale, granulomatöse Uveitis oder Meningoenzephalitis oder beides gekennzeichnet war. Erst bei der Sektion der erkrankten Tiere zeigten sich pathologische Veränderungen, die denen der FIP ähnelten.

Ähnliche Beobachtungen machten auch DOHERTY (1971), BISTNER (1973), GELATT (1973) sowie RUBIN, POTE und CIMPRICH (1974) und unterschieden sie von der Form der granulomatösen Uveitis, wie sie gewöhnlich als Begleiterscheinung von System-Mykosen oder der Toxoplasmose anzutreffen ist. Die in Verbindung mit FIP auftretenden Augenveränderungen sind selten allein auf den Uvealtrakt beschränkt, sondern erfassen das gesamte Auge und führen zu einer Panophthalmitis (GELATT, 1973).

Spontane Genesungen sind selten. Sie wurden nur einmal nach natürlicher und einmal nach experimenteller Infektion beobachtet (WILKINSON, 1970; HARTIGAN und WILSON, 1972). BICKFORD vermutete, daß alte Katzen, die diffuse granulomatöse Organveränderungen ohne Ansammlung von Exsudat aufweisen, die Fälle darstellen, die das akute Stadium der FIP überlebten (HARDY und O'REILLY, 1969).

6. Pathologisch-anatomische und -histologische Befunde

Die Feline Infektiöse Peritonitis ist durch serofibrinöse Ergüsse in den Körperhöhlen und eine granulomatöse Reaktion an den serösen Häuten charakterisiert. Die Organparenchyme und das Gefäßsystem sind in unterschiedlichem Maße einbezogen (WOLFE und GRIESEMER, 1966 und 1971; WARD und PEDERSON, 1969; WARD und THEILEN, 1969; STEVENSON, TILT und PURDY, 1971; STÜNZI und GREVEL, 1973; TUCH, WITTE und WÜLLER, 1974). MONTALI und STRANDBERG (1972) unterschieden eine fibronekrotische Form, die sich in erster Linie auf die serösen Häute erstreckt, von einem granulomatösen Typ, bei dem eine Phlebitis vorherrscht.

FELDMANN und JORTNER beschrieben letztere Form bereits 1964 und bezeichneten sie als "feline systemic proliferative and exudative vasculitis". Sie war charakterisiert durch granulomatöse Veränderungen, Nekrosen und Phlebitis in vielen Organen einschließlich der Nieren, Lungen, Augen und Meningen. Später erwähnten auch andere Autoren diese granulomatösen Entzündungsprozesse der Eingeweide, Augen und Meningen und wiesen darauf hin, daß diese Erscheinungen einschließlich der Vaskulitis im Vordergrund der pathologischen Veränderungen stehen (WARD et al., 1968; WARD und THEILEN, 1969; DOHERTY, 1971).

Nach experimenteller Infektion liegen am häufigsten jene

Veränderungen vor, die der Krankheit ihren Namen gaben. Im Abdomen ist der Magen bei stark ausgebildeter Hepatomegalie nach dorsal, links der Mittellinie verschoben. Das große Netz ist gelatinös verklumpt und übersät mit stippchenartigen, weißen nekrotischen Herden (COLBY und LOW, 1970; RUBIN, POTE und CIMPRICH, 1974). In dem zum Teil ödematösen Mesenterium treten ebenfalls zahlreiche, bis hirsekorngroße, weißliche Knötchen auf.

Das viszerale Blatt des Peritonaeums, das stets stärkere Veränderungen zeigt als das parietale, hat ein granuliertes Aussehen und ist mit den grau-gelblichen Fibrinflocken des Exsudates bedeckt. Die serösen Häute sind flächig verdickt besonders im Bereich von Leber und Milz. Dadurch kann es zwischen Leber und Zwerchfell, aber auch zwischen den übrigen Organen zu Verklebungen kommen. Dies wird häufig nach langwieriger, klinischer Erkrankung beobachtet (WOLFE und GRIESEMER, 1971; TUCH, WITTE und WÜLLER, 1974). Außer den granulomatösen Veränderungen finden sich einzelne nekrotische Herde auf Leber und Gallenblase, Milz, Niere, Darm und Blase. Die mesenterialen Lymphknoten sind in der Regel verdickt.

Die Ausdehnung des Exsudates bis hin zur Tunica vaginalis, zu den Hoden und Nebenhoden ist die Ursache für das Auftreten von Periorchitis und Orchitis (HARDY und O'REILLY, 1969; WOLFE und GRIESEMER, 1971).

In manchen Fällen wird auch die Pleura erfaßt, und es kommt zur Ausbildung eines Hydrothorax. Die Pleuritis kann serofibrinösen, fibrinösen und granulomatösen Charakter annehmen und einseitige oder generalisierte Obliteration der Lungen zur Folge haben (WOLFE und GRIESEMER, 1966 und 1971; DISQUE, CASE und YOUNGREN, 1968; ZOOK et al., 1968; COLBY und LOW, 1970). Eine Herzschiädigung kann eintreten, wenn die am Innenblatt der Perikards gelegenen Veränderungen sich zur Herzohrregion oder Herzspitze sowie dem Myokard hin ausdehnen (TUCH, WITTE und WÜLLER, 1974).

Pathologisch-histologische Untersuchungen bestätigen die makroskopischen Befunde. Die im Omentum, Mesenterium und auf den serösen Häuten der Organe sichtbaren, miliaren Knötchen setzen sich aus Lymphozyten, Plasmazellen, neutrophilen Granulozyten und Histiozyten zusammen. In den fibrinösen Auflagerungen der Organe sind Monozyten, Makrophagen, Leukozyten und Erythrozyten enthalten (TUCH, WITTE und WÜLLER, 1974). Die herdförmigen, nekrotischen Veränderungen sind bei allen Organen subkapsulär gelegen und dehnen sich zum Teil bis in die Tiefe des Organs aus.

Bei ausgeprägtem Auftreten von Phlebitis bzw. Vaskulitis sind die Veränderungen durch subendotheliale Zellinfiltration mit endothelialer Proliferation charakterisiert (WARD und THEILEN, 1969). TUCH, WITTE und WÜLLER (1974) beobachteten, daß um kleine und mittlere Venen, Arteriolen und Lymphgefäße lymphoplasmazelluläre Infiltrate erschienen und häufig Gefäßwandläsionen auftraten. Diese Gefäßveränderungen waren besonders im Netz, Mesenterium, in der Niere und dem subpleuralen Gewebe der Lunge anzutreffen. Leukozyten, mononukleäre Zellen und Detritus lagen unter dem geschwollenen Endothel, und eine Thrombenbildung war häufig nachweisbar. Nach weiterem Fortschreiten der Veränderungen waren die Gefäße als solche nicht mehr erkennbar und bildeten vielfach das Zentrum von Nekrosen. Die Autoren vermuteten, daß die im Frühstadium der Infektion nachweisbare, perivaskuläre Zellinfiltration einer raschen Degeneration unterlag, so daß sekundär eine Einwanderung von Leukozyten zum Abräumen der Zerfallsprodukte erfolgte.

7. Diagnose und Differentialdiagnose

Die Diagnose der klassischen Feline Infektiösen Peritonitis kann am lebenden Tier nur auf Grund des klinischen Erscheinungsbildes gestellt werden, während sich die extraperitonealen Formen der klinischen Diagnose häufig entziehen und erst

pathologisch-anatomisch bzw. -histologisch erfaßt werden. Virologische und serologische Methoden zur Diagnostik der FIP wurden bisher nicht beschrieben.

WARD, SMITH und SCHALM (1971) fanden bei zwei spontan erkrankten und vier experimentell infizierten Tieren zytoplasmatische Einschlüsse in neutrophilen Granulozyten. Sie traten einzeln oder multipel auf, waren azidophil und aus einem großen oder mehreren kleinen Granula zusammengesetzt. Diese Befunde wurden bisher von anderen Autoren nicht bestätigt.

Für die Differentialdiagnose der peritonealen Form der FIP ist eine Abgrenzung gegenüber der Panleukopenie und bei der Augenform auch gegenüber den respiratorischen Viruserkrankungen (Katzenschnupfen, Katzentracheitis) notwendig. Klinisch kann bei der Panleukopenie im Unterschied zur FIP eine heftige Diarrhoe beobachtet werden. Gleichzeitig ist eine starke Leukopenie symptomatisch. Dabei gelingt der Nachweis des Virusantigens in den infizierten Organen mit Hilfe der Immunfluoreszenz. Die Anzüchtung und Identifizierung des Erregers der Panleukopenie in Zellkulturen bereiten kaum Schwierigkeiten.

Eine Unterscheidung der FIP gegenüber den respiratorischen Virusinfektionen ist beim Einzeltier durch den gutartigen Verlauf dieser Erkrankung sowie durch die Identifizierung der Erreger nach Anzüchtung in Zellkulturen gegeben.

Ein in seiner Gesamtheit zumeist charakteristischer Befund der Leukose bei Katzen wird durch klinische, hämatologische, pathologische und histologische Untersuchungen erbracht (BEER, 1974).

Von den bakteriellen Infektionen ist die bei Feliden selten anzutreffende Tuberkulose zu erwähnen. Sie kann bei einer primären Infektion über den Magen-Darm-Trakt Veränderungen der mesenterialen Lymphknoten sowie serofibrinöses Exsudat

im Abdomen zur Folge haben (INGRAM, 1971). VON EBERSTEIN (1967) erwähnte die Bauchfelltuberkulose, bei der das Netz verklumpt und von zahlreichen dunkelbraunen Granulationen durchsetzt war. Die Bauchhöhle enthielt reichlich graurötliche, trübe, wässrige Flüssigkeit. Zur Abgrenzung des Tuberkuloseverdacht ist der Nachweis der säurefesten Stäbchen aus dem Punktat der Bauchhöhle oder der Tuberkulintest heranzuziehen (FREUDIGER, 1956).

Jede Ursache, die Pleural- oder Peritonealflüssigkeitsansammlungen zur Folge haben kann, muß differentialdiagnostisch in Betracht gezogen werden. Größere Ansammlungen an Pleuralflüssigkeit werden auch bei Verletzungen, Empyem, Chylothorax, Herzfehlern oder Tumoren angetroffen. Peritonitis und Flüssigkeitsansammlung im Abdomen können aus Perforationen, Fremdkörpern, Neoplasien, Chyloabdomen, Lebererkrankungen oder Glomerulonephritis resultieren (ROBISON, HOLZWORTH und GILMORE, 1971). Die Bestimmung, ob es sich bei der Flüssigkeitsansammlung um ein Exsudat oder Transsudat handelt, ist der erste Schritt, um einige der Erkrankungen auszuschließen. Bakteriell bedingte Peritonitis führt bei Palpation zu Schmerzäußerung und zeigt häufig ein purulentes Exsudat. Mit Hilfe der bisherigen labordiagnostischen Kenntnisse über das Exsudat der FIP ist eine weitere Abgrenzung möglich.

Trächtigkeit und Pyometra können palpatorisch sowie röntgen-diagnostisch ausgeschaltet werden.

8. Therapie und Prophylaxe

Therapeutische Maßnahmen sind bei der Felines Infektiösen Peritonitis bisher nur in Einzelfällen bekannt geworden (ROBISON, 1968; FELDMANN, HARDY und SCHAUFFLER, 1970; COLGROVE und PARKER, 1971). Im allgemeinen haben aber die Verabreichung von Antibiotika und Corticosteroiden sowie symptomatische Behandlung mit Vitaminen und Elektrolyt-

lösungen keinen Erfolg und verlängern lediglich den klinischen Verlauf (DISQUE, CASE und YOUNGREN, 1968; WARD und PEDERSON, 1969). Prophylaktische Maßnahmen gegen FIP sind bisher nicht bekannt.

9. Bisherige Kenntnisse zur Ätiologie der FIP

Die Annahme, daß bei der Feline Infektiösen Peritonitis ein Virus das ursächliche Agens ist, wird bestärkt durch bisher positive Ergebnisse von Übertragungsversuchen mit Exsudaten und Organsuspensionen, die bakteriendichte Filter passiert hatten (WARD et al., 1968; ZOOK et al., 1968; HARDY und O'REILLY, 1969; HARDY und HURVITZ, 1971; TUCH, WITTE und WÜLLER, 1974).

HARDY und HURVITZ (1971) legten Zellkulturen von Netz und Milz aus fünf natürlich erkrankten und zwei experimentell infizierten Katzen an. Das Medium wurde 2mal wöchentlich gewechselt und die Kulturen alle vierzehn Tage passagiert. Ein zytopathischer Effekt konnte bei keiner Kultur festgestellt werden. Mit dem Medium, das durch 200 nm-Filter gegeben und anschließend intraperitoneal Katzen inokuliert wurde, konnte FIP nicht induziert werden.

Hingegen nahmen LOW et al. (1971) einen zytopathischen Effekt in Nierenzellkulturen von experimentell infizierten und natürlich erkrankten Katzen wahr. Er war durch große Zytoplasma-vakuolen in vielen Zellen und Ausbildung von Zellsynzytien charakterisiert. Das Medium wurde auf primäre Nierenzellkulturen von gesunden Katzen und Zellkulturen aus menschlichen Embryo- und Hautfibroblasten gegeben und induzierte die gleichen Zellveränderungen. Den Autoren gelang es jedoch nicht, durch intraperitoneale und intravenöse Applikation von Medium oder Zellen in Katzen FIP hervorzurufen.

KONISHI, TAKAHASHI und OGATA (1971) inokulierten Exsudat eines

infizierten Tieres in den Dottersack sieben Tage alter embryonierter Eier sowie in die Chorio-Allantois-Membran von neun Tage alten Bruteiern. Sieben Tage p.i. wurden die Eier geerntet. Es ließen sich keine virusspezifischen Veränderungen des Embryos oder der Eihäute feststellen. Die gleichen Autoren versuchten durch intraperitoneale Applikation von Exsudat an Absatzmäuse, Meerschweinchen und Hamster den Erreger im Tier anzuzüchten. Zwei Wochen p.i. wurden die Tiere entblutet; Veränderungen, die auf eine Haftung und Vermehrung des Erregers der FIP hinwiesen, waren nicht aufgetreten.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen liegen von WARD et al. (1968), ZOOK et al. (1968) sowie OSTERHAUS, HORZINEK und ELLENS (1976) vor. ZOOK et al. (1968) übertrugen FIP mit Exsudat, das durch Filter einer Porengröße von 450 nm und 200 nm gegeben worden war. In den Mesothelzellen des Mesenteriums zwei so infizierter und am 6. und 8. Tag p.i. getöteter Tiere wurden Viruspartikeln mit einem Durchmesser von 90 nm im Endoplasmatischen Retikulum und in Lysosomen nachgewiesen.

WARD et al. (1968) und WARD (1970) fanden Viruspartikeln in den Mesothelzellen von Netz und Leber sowie in den Makrophagen der typisch veränderten Gewebe wie Netz, Milz, Leber und an der subkutan gelegenen Injektionsstelle. Die Katzen waren mit Organmaterial an FIP erkrankter Tiere, das 200 nm- und 100 nm-Filter passiert hatte, infiziert.

Die Viruspartikeln waren meist in kleinen Vesikeln des Golgi-Apparates oder in glattwandig erscheinenden Zisternen des Endoplasmatischen Retikulums gelegen. Ihr Durchmesser betrug 70 - 75 nm. Sie wurden durch eine trilaminare Membran (unit membrane) begrenzt. Viele dieser Partikeln enthielten ein ringförmiges, hohl erscheinendes Nucleoid von 50 - 55 nm Durchmesser mit einer zentral aufgehellten Zone, deren Durchmesser bei ca. 30 nm lag (WARD, 1970).

Da sowohl Bildungsstadien wie auch komplette Partikeln des Virus beobachtet wurden, nahmen ZOOK et al. (1968) sowie HARDY und HURVITZ (1971) an, daß es sich bei diesen Partikeln um das ursächliche Agens der FIP handelt. Die Lagebeziehung der Viruspartikeln zum Endoplasmatischen Retikulum sowie ihre Größe und ihr Aufbau lassen die Autoren vermuten, daß es sich bei dem Erreger der FIP um einen Vertreter der Coronavirus-Gruppe handelt.

OSTERHAUS, HORZINEK und ELLENS (1976) versuchten eine Virusreinigung durch Zentrifugierung in Dichtegradienten. Hierfür überschichteten sie eine 25 %ige Saccharoselösung in TEN-Puffer, die auf einem 55 %igen Saccharosekissen lag, mit 10 %iger Lebersuspension an FIP erkrankter Tiere sowie Aszitesflüssigkeit und zentrifugierten bei 23.000 U/Min. Der Stufengradient wurde fraktioniert und das Extinktionsprofil bei 254 nm bestimmt. Danach wurde aus der Interphase zwischen beiden Zuckerlösungen das Material mit Ammoniumsulfat bei 40 %iger Sättigung präzipitiert, auf einen isokinetischen Rohrzuckergradienten pipettiert und unter Bedingungen, die für eine Teilchendichte von 1,18 g/ml und einen Sedimentationskoeffizienten von 400 S berechnet worden waren, zentrifugiert. Als inneren Standard (270 S) verwandten sie ein mit ³H-Uridin markiertes Alphavirus der Togafamilie. Es erfolgte eine weitere Auftrennung in einem isopyknischen Saccharosegradienten und eine anschließende elektronenmikroskopische Untersuchung.

Die aus Leberhomogenat nativ und Aszitesflüssigkeit nach Formaldehyd-Fixierung präparierten Partikeln erschienen im Elektronenmikroskop mäßig pleomorph mit einem Durchmesser von ca. 100 nm und trugen schlingen- bis keulenförmige Projektionen. Im Innern erschienen unregelmäßig geformte, elektronendichte Flecken, und an desintegrierten Teilchen wurde eine Membran beobachtet. Die physikalischen Parameter sowie die Morphologie des untersuchten Virus bestärken die Annahme,

daß es sich bei dem Erreger der FIP um einen Vertreter der Coronavirusgruppe handeln könnte.

Während die genannten Berichte davon ausgingen, daß das ursächliche Agens eine Virusart darstellt, wurde von anderen Autoren auch die Möglichkeit in Betracht gezogen, daß eine Beziehung zwischen der FIP und der Felinen Leukämie besteht. So fanden HARDY und HURVITZ (1971) mit Hilfe des Immundiffusionstests bei spontan an FIP erkrankten Katzen das gruppenspezifische Antigen des Felinen Leukämie Virus (FeLV). Bei einem dieser Tiere wurde elektronenmikroskopisch in den mesenterialen Lymphknoten FeLV gefunden.

Für diese Vermutung spricht auch die Beobachtung von COTTER, GILMORE und ROLLINS (1973). Sie berichteten vom Auftreten der FeL und der FIP in einer zweieinhalb Jahre lang isoliert gehaltenen Katzenpopulation. Von 35 Katzen erkrankten zehn an Leukämie und vier an FIP.

In diesem Zusammenhang wurde von WARD und THEILEN (1969) erwähnt, daß ein fünf Monate alter Kater an FIP erkrankte, nachdem er im Alter von einem Tag intraperitoneal mit FeLV infiziert worden war, das aus Tumorgewebe einer experimentell induzierten Leukämie-Katze stammte.

Nur selten wird vom Auftreten einiger Sekundärkeime berichtet. TUCH, WITTE und WÜLLER (1974) konnten in den Organen einer experimentell infizierten Katze Mykoplasmen nachweisen. Nach Übertragung der Mykoplasmasuspension auf eine fünf Wochen alte Katze konnten während einer viermonatigen Beobachtungszeit keine Symptome der FIP beobachtet werden. Aus den Organen eines Leoparden konnten sie kulturell Mycobacterium bovis nachweisen.

JONES und HOGG (1974) züchteten Pasteurella multocida und E. coli aus Leber, Milz, Niere und dem Kniegelenk an. MONTALI und STRANDBERG (1972) fanden bei einer experimentell infizier-

ten Katze im Exsudat hämolytische Staphylokokken; sie bezeichneten dies als Sekundärinfektion. ROBISON, HOLZWORTH und GILMORE (1971) isolierten aus dem Exsudat an FIP erkrankter Katzen bei vier Tieren gramnegative Stäbchen, die nicht näher klassifiziert wurden, und bei einem Staphylococcus albus. WARD und THEILEN (1969) berichten über das Auftreten von E. coli und Streptococcus fecalis in geringer Anzahl in der Milz. WOLFE und GRIESEMER (1966) isolierten bei vier natürlich gestorbenen Tieren aus Leber, Milz oder Exsudat vier verschiedene Keime: nichthämolytische Staphylokokken, hämolytische Streptokokken, Enterokokken und coliforme Keime.

III. Eigene Untersuchungen

MATERIAL UND METHODE

1. Versuchsplanung

Ende 1973 und Anfang 1974 stellte die Klinik für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin Peritonealflüssigkeit von zwei Katzen, bei denen klinisch der Verdacht auf FIP bestand, zur Verfügung. Durch Übertragungsversuche auf Katzen sollte geprüft werden, ob die Exsudate in der Lage sind, das klinische sowie pathologisch-anatomische Bild der Felines Infektiösen Peritonitis hervorzurufen.

Nach Gewinnung reichlicheren Ausgangsmaterials sollte getestet werden, ob außer Katzen auch andere Wirtssysteme, wie zum Beispiel kleine Versuchstiere, bebrütete Hühnereier sowie Zell- und Organkulturen für die Vermehrung des Erregers und dessen Isolierung geeignet sind.

Für die Herstellung von Immunseren wurden möglichst ballastfreie Antigene benötigt. Deshalb wurde mittels der Gelchromatographie eine partielle Reinigung von infektiösen Organverreibungen angestrebt. Eine weitere Aufgabe bestand darin, die Immunfluoreszenz, die Komplementbindungsreaktion, die Immunelektrophorese und den Präzipitationstest auf ihre Eignung zum Nachweis von FIP-Antigenen zu testen.

2. Versuchstiere

Für die Infektions- und Immunisierungsversuche standen Katzen, Goldhamster, Mäuse, Kaninchen und Meerschweinchen zur Verfügung.

Die 24 Hauskatzen - 18 männliche und 6 weibliche - waren zu Beginn der Infektionsversuche zwei bis sechs Monate alt. Bei Einstellung in den Versuchsstall wurden die Tiere mit

Piperazin-citrat-Paste^R (Mérieux-Rentschler) entwurmt und mit Felidovac^R (Behringwerke) gegen Panleukopenie immunisiert. Die Katzen lebten in einem geschlossenen Raum, in dem sie sich frei bewegen konnten. Eine Trennung der infizierten von den nicht infizierten Tieren war aus räumlichen Gründen nicht möglich. Eine Woche vor der Infektion und während des Infektionsversuchs wurde täglich die Körpertemperatur kontrolliert. Tiere, die nach einer Infektion innerhalb einer Beobachtungszeit von vier Wochen nicht erkrankten, wurden erneut zu Infektionsversuchen herangezogen. Als Kontrolltier galt ein nicht infizierter Kater, der über die gesamte Versuchszeit von 12 Monaten mit allen Tieren zusammenlebte und nicht erkrankte.

Vier ausgewachsene Goldhamster und Säuglingsmäuse aus institutseigener, konventionell gehaltener Zucht dienten ebenfalls für die Übertragungsversuche.

Kaninchen und Meerschweinchen wurden zur Herstellung von Immunseren herangezogen.

3. Übertragungsversuche auf Katzen

3.1. Vermehrung des Ausgangsmaterials

Zwei Bauchhöhlenexsudate aus der Klinik für kleine Haustiere wurden nach 8wöchiger Lagerung bei -24°C an je eine zehn Wochen alte Katze intraperitoneal verabreicht (jeweils 2 ml). Eines der beiden Exsudate wurde insgesamt 5mal in Katzen passagiert, um eine ausreichende Menge infektiösen Materials für die geplanten Anzüchtungs- und Diagnostikversuche zu gewinnen. Dabei wurden die experimentellen Übertragungen mit Bauchhöhlenexsudaten, Serum, Leber-, Netz- und Lungenverreibungen durchgeführt.

Zur Testung auf Sekundärkeime wurden die Exsudate bakteriologisch untersucht. Außerdem erfolgte eine Untersuchung auf Mykoplasmen durch Beimpfung von flüssigem PPLO-Medium (Difco)

unter Zusatz von inaktiviertem, sterilen Pferdeserum und Kristallviolett.

Die experimentellen Infektionen wurden intraperitoneal, intramuskulär, subkutan und oral durchgeführt. Bei intraperitonealer Applikation wurden die Versuchstiere mit 20 mg/kg Körpergewicht Vetalar^R (Parke-Davis) intramuskulär sediert. Der Unterbauch wurde vor der Infektion geschoren und desinfiziert.

3.2. Infektion mit unbehandelten Substraten

Um festzustellen, in welchen Organen und Exsudaten der Erreger der Feline Infektiösen Peritonitis durch Übertragung auf Katzen nachweisbar ist, wurden Bauchhöhlenexsudat, Leber-, Netz- und Lungenverreibungen sowie Serum mehreren Versuchstieren unbehandelt verabreicht. Die Menge der Exsudate betrug bei intraperitonealer Applikation 1 ml, 2 ml und 3 ml, bei intramuskulärer 2 ml, bei subkutaner 2 ml und 4 ml und bei oraler Applikation 3 ml.

Bei den Organverreibungen handelte es sich um 30 %ige Suspensionen in PBS (phosphat-buffered-saline). Die Verreibungen wurden 5mal bei 4.500 U/Min. bei 4° C 20 Minuten lang zentrifugiert und der Überstand bei -80° C eingefroren. Gegebenenfalls wurde die Suspension nach dem Auftauen erneut niedrigtourig zentrifugiert, um einen möglichst klaren Überstand zu erhalten. Die Organverreibungen wurden lediglich intraperitoneal appliziert, und zwar jeweils 2 ml der entsprechenden 30 %igen Suspension.

Außerdem wurde eine experimentelle Übertragung durch intraperitoneale Verabreichung von 1,5 ml Serum einer an FIP erkrankten Katze versucht.

3.3. Infektion mit behandeltem Exsudat

Bei der Vermehrung des Ausgangsmaterial wurden neben den oben beschriebenen und zum Teil auch in der Literatur erwähnten Infektionsmodi weitere Infektionsversuche mit behandeltem Exsudat durchgeführt.

Um das Verhalten des Erregers gegenüber Chloroform zu testen, wurde das infektiöse Exsudat einer Katze mit Chloroform p.a. im Verhältnis 10 : 1 gemischt und bei 4° C zwei Stunden lang geschüttelt. Nach Entfernung des Chloroforms wurde das so behandelte Exsudat zwei Katzen intraperitoneal verabreicht (je 2 ml).

In einem anderen Versuch sollte festgestellt werden, ob der Erreger mit Ammoniumsulfat fällbar ist. Dafür wurde das Exsudat zu gleichen Teilen mit kalter, gesättigter Ammoniumsulfatlösung tropfenweise unter Rühren versetzt. Das Gemisch verblieb 24 Stunden im Kühlschrank bei 4° C unter ständigem Rühren und wurde anschließend bei 4.500 U/Min. und 4° C 20 Minuten lang zentrifugiert. Nachdem das Sediment in 40 %iger Ammoniumsulfatlösung resuspendiert worden war, erfolgte eine erneute Zentrifugation. Das Sediment wurde in PBS, pH 8,0, resuspendiert und 24 Stunden gegen denselben Puffer dialysiert. Nach Zentrifugation wurde das Sediment eines so gefällten, infektiösen Exsudates in 2 ml PBS aufgenommen und einer Katze intraperitoneal verabreicht.

4. Übertragungsversuche auf Hamster und Mäuse

Vier Goldhamstern wurde ein infektiöses Exsudat intraperitoneal injiziert, und zwar einem 0,8 ml und den anderen drei 0,5 ml. Zwei Hamster wurden nach 11 Tagen, die anderen beiden nach 34 Tagen getötet und seziiert.

Bei den Versuchen mit Säuglingsmäusen wurden zwei Leberverrei-

bungen verwendet, die bei Katzen i.p. appliziert FIP induzierten. Zehn eintägige Säuglingsmäuse wurden mit je 0,01 ml der einen und zehn mit der anderen Verreibung intracerebral infiziert. Zwei anderen Würfen von ebenfalls je zehn Jungen wurden jeweils 0,03 ml der entsprechenden Suspension intraperitoneal verabreicht. Nach einer Beobachtungszeit von fünf Wochen sind die Tiere getötet und pathologisch-anatomisch untersucht worden.

5. Anzüchtungsversuche in Zellkulturen

Die Anzucht des Erregers wurde durch Verimpfen von Exsudaten und Organverreibungen auf primäre Nieren-, Lungen-, Hoden- und Knochenmark-Zellkulturen von jungen, nicht infizierten Katzen versucht.

Die Zellen wurden nach der Trypsinierungsmethode von Dulbecco aus dem Gewebeverband herausgelöst. Zur Anzucht wurden die einzelnen Zellarten auf folgende Zellkonzentrationen pro ml Medium eingestellt:

Nieren: 4×10^5	Hoden: 4×10^5
Lungen: 5×10^5	Knochenmark: 3×10^6

Je 1,5 ml der fertigen Zellsuspension wurden in Röhrchen eingefüllt. Als Anzuchtmedium für die Lungenzellkulturen diente Hanks-Laktalbumin-Hefe-Medium mit 10 % Kälberserum unter Zusatz von 100 IE Penicillin und 100 ug Dihydrostreptomycin pro ml. Für Nieren-, Knochenmark- und Hoden-Zellkulturen wurde L 15-Medium (Flow Labs., Bonn) mit 10 % Kälberserum verwendet. Für das Erhaltungsmedium wurde lediglich der Gehalt an Kälberserum auf 2 % reduziert. Bei allen Kulturen erfolgte ein Mediumwechsel in zweitägigem Abstand.

Die Verreibungen für die Anzuchtversuche stammten aus Gehirn, Thymus, Darmlymphknoten, Knochenmark, Lunge, Herz, Leber, Milz, Niere, Darm, Peritoneum und Netz. Die Zellkulturen wurden

zusammen mit der jeweiligen Suspension zwei Stunden lang bei 37° C bebrütet. Danach wurden sie mit PBS gespült und mit ErhaltungsmEDIUM beschickt. Die Kulturen wurden dreimal in wöchentlichen Abständen passagiert.

Primäre Nieren-Zellkulturen einer an FIP erkrankten Katze wurden acht Tage nach der Aussaat durch Einfrieren und Auftauen aufgeschlossen und mit Zelldetritus und Medium auf primäre Nieren-Zellkulturen einer nicht infizierten Katze verimpft.

Eine mit infektiösem Exsudat beimpfte Katzennieren-Zellkultur wurde nach einer Beobachtungszeit von fünf Tagen abtrypsiniert, die Zellen mit Nierenzellen einer nicht infizierten Katze vermischt und erneut ausgesät.

Außerdem wurde versucht, die Peritonealzellen eines infektiösen Exsudates unter Zusatz von L 15-Medium, 10 % Kälberserum und Neomycin anzuzüchten.

Von einer an FIP erkrankten Katze wurden Organkulturen aus Mesenterium, Vena cava caudalis und Niere angelegt. Hierzu wurden Gewebestückchen mit einer Kantenlänge von ca. 2 mm in Vierkantflaschen explantiert. Etwa 20 - 30 Minuten nach dem Einpflanzen wurden die Gewebestückchen so mit Medium-199 beschickt, daß ihre Oberfläche gerade bedeckt war. Das Medium enthielt 15 % Kälberserum, 100 IE Penicillin und 100 µg Streptomycin und wurde in zweitägigem Abstand gewechselt.

6. Anzüchtungsversuche in Eiern und Hämagglutinationstest

Je 0,2 ml der Exsudate von spontan erkrankten Katzen wurden in die Allantoishöhle 10tägiger, embryonierter Hühnereier injiziert. Nach sieben Tagen Bebrütungsdauer wurden je 0,2 ml der gewonnenen Allantoishöhlenflüssigkeit wiederum in die Allantoishöhle 10tägiger Eier verimpft. Je 0,1 ml ist auf die Chorio - Allantois-Membran gleichaltriger Eier gegeben worden.

Nach sieben Tagen Bebrütungsdauer bei 37,5° C wurden die Eier durch Kälte abgetötet und geerntet. Die gewonnene Allantoishöhlenflüssigkeit wurde für Hämagglutinationstests mit Hammel-, Meerschweinchen- und Hühner-Erythrozyten herangezogen.

7. Immunfluoreszenz

Das Serum einer an FIP erkrankten Katze sowie das Serum eines nicht infizierten Tieres wurden nach Ammoniumsulfatfällung an Fluoreszeinisothiocyanat konjugiert (VOSS et al., 1967). Zur Untersuchung kamen Deckglaskulturen aus Nieren- und Hodenzellen gesunder Katzen, die als Kontrollen herangezogen wurden. Ein Teil der Kulturen wurde mit dem infektiösen Exsudat eines erkrankten Tieres beimpft. Außerdem wurden Deckglaskulturen aus den Nierenzellen einer experimentell infizierten Katze untersucht.

Nach dem Spülen der Deckglaskulturen in PBS, pH 8,0, wurden sie 15 Minuten in Aceton p.a. fixiert, luftgetrocknet, mit den entsprechenden Seren überschichtet und eine Stunde in der feuchten Kammer bei 37° C belassen. Danach wurden die Deckgläschen mit PBS, pH 8,0, abgespült, luftgetrocknet, in Glycerinphosphatpuffer (8 Teile Glycerin, 2 Teile PBS, pH 8,0) eingebettet und mit dem Fluoreszenzmikroskop bei 320facher und 800facher Vergrößerung betrachtet.

8. Komplementbindungsreaktion (KBR)

Die Durchführung der KBR erfolgte im Mikrotitersystem nach der von SEVER (1962) modifizierten KOLMER-Technik. Die Bindungszeit des Reaktionsgemisches betrug 18 Stunden bei 4° C. Alle Reaktionspartner wurden in den Mengen von 0,025 ml verwendet. Zur Verdünnung der Seren, des Komplements und des Antigens sowie zur Herstellung des hämolytischen Systems wurde Veronalpuffer (MAYER et al., 1946) verwendet. Das hämoly-

tische System bestand zu gleichen Teilen aus 1 : 1000 verdünnten "Anti-Sheep-Hemolysine" (Behringwerke) und einer 2 %igen Hamamelerythrozyten-Suspension. Als Komplement diente Meer-schweinchenserum von institutseigenen Tieren.

Als Virusantigen kam eine infektiöse Leberverreibung zur Auswertung. Das Kontrollantigen war eine Leberverreibung, die von einer nicht infizierten Katze stammte.

Zur Testung kamen vier Seren von an FIP erkrankten Katzen und das Serum eines Kaninchens, das mit einer infektiösen Leberverreibung immunisiert worden war. Zwei der Versuchskatzen waren vor der Serumgewinnung intraperitoneal einmalig infiziert worden, die dritte Katze oral und intraperitoneal und die vierte subkutan, intramuskulär und intraperitoneal. Die Seren wurden jeweils im Endstadium der Erkrankung gewonnen.

Die Kontrollseren stammten aus nicht infizierten Katzen und nicht immunisierten Kaninchen. Alle Seren kamen in Verdünnungsstufen von 1 : 2 bis 1 : 256 zur Auswertung und wurden vor Gebrauch bei 56° C 30 Minuten inaktiviert.

Beim Ansatz der Serumkontrolle wurde das Virusantigen durch Puffer ersetzt, bei den Antigenkontrollen das Serum und bei den Komplementkontrollen sowohl das Antigen wie das Serum.

9. Herstellung von Immunseren

9.1. Immunisierungsmodus

Sechs Kaninchen und sechs Meerschweinchen wurden für die Antiserumgewinnung herangezogen. Die Kaninchen wurden dreimal im Abstand von 12 und 14 Tagen immunisiert. Dafür wurde das Antigen jeweils zu gleichen Teilen mit Freund's inkomplettem Adjuvans vermischt und bei der ersten Injektion auf den Rücken zu vier Quaddeln von je 1 ml pro Körperseite intrakutan und zusätzlich 2 ml intramuskulär verabreicht. Die zwei weiteren

Immunisierungen erfolgten mit demselben Gemisch. Je Beinseite wurden den Tieren 2 ml intramuskulär appliziert.

Bei der Erstimmunisierung der Meerschweinchen wurden insgesamt 2 ml des Antigen-Adjuvans-Gemisches in die Fußsohle und intramuskulär injiziert. Die Zweitimmunisierung erfolgte nach 14 Tagen lediglich intramuskulär in derselben Dosierung.

9.2. Immunisierung mit ungereinigtem Antigen

Es wurden nicht infektiöse und infektiöse Exsudate sowie infektiöse 30 %ige Organverreibungen aus Leber und Netz an FIP erkrankter Katzen verwendet. Mit einem nicht infektiösen Exsudat und einer Leberverreibung wurden zwei Kaninchen immunisiert. Vier Meerschweinchen wurde ein nicht infektiöses und ein infektiöses Exsudat, eine Leber- und eine Netzverreibung verabreicht.

9.3. Immunisierung mit partiell gereinigtem Antigen

Für die Gewinnung eines möglichst ballastfreien Virusantigens wurde mit Hilfe der Gelchromatographie eine partielle Reinigung von 30 %igen Leberverreibungen durchgeführt. Die dafür verwendete Säule K 26/100 (Pharmacia Fine Chemicals AB, Uppsala, Schweden) wurde mit Sepharose 4B-Gel (Pharmacia) gepackt. Das Gel wurde vorher mit PBS, pH 8,0, gewaschen. Die Ausschlußgrenze lag für Polysaccharide bei einem Molekulargewicht von 5×10^6 und für Proteine bei 20×10^6 . Die Durchflußgeschwindigkeit betrug 15 - 20 ml pro Stunde. Die Fraktionen wurden alle 10 - 15 Minuten gewechselt, und ihre Messung erfolgte im Uvicord (LKB-Produkte AB, Stockholm, Schweden) bei einer Wellenlänge von 280 nm. Verwendet wurden je Säulenlauf 8 ml Lebersuspension von nicht infizierten Tieren und von an FIP erkrankten Versuchskatzen.

Vier Kaninchen und zwei Meerschweinchen sind entsprechend dem

beschriebenen Immunisierungsschema mit einzelnen Fraktionen des Eluats immunisiert worden.

9.4. Absättigungsverfahren

Die gewonnenen Antiseren wurden in der Immundiffusion und in der Immunelektrophorese geprüft. Ein Teil von ihnen wurde außerdem mit Katzen-Leberpulver, Leberverreibung und Serum von nicht infizierten Katzen abgesättigt. Die Absättigungsverfahren gingen wie folgt vor sich:

2 ml Immunserum wurden mit 0,5 mg Leberpulver versetzt und das Gemisch nach einer Absättigungszeit von 30 Minuten bei Zimmertemperatur zentrifugiert (4.500 U/Min.). Der Überstand wurde erneut mit 0,5 mg Leberpulver versetzt, abermals stehen gelassen und zentrifugiert. Dieser Vorgang wurde noch einmal wiederholt und nach der letzten Zentrifugation der Überstand als abgesättigtes Serum im Versuch verwendet.

Die Absättigung der Seren mit Leberverreibung geschah im Verhältnis 1 : 6. Hierzu wurden 2,5 ml Serum und 0,5 ml Leberverreibung zwei Stunden lang bei Zimmertemperatur in einem Becherglas gerührt. Danach erfolgte eine Ultrazentrifugation bei 30.000 U/Min. 30 Minuten lang. Mit dem Überstand wurde gearbeitet.

Die Absättigung mit Katzen-Normalserum erfolgte im Verhältnis 1 : 1. Dabei wurden in stufenweisen Arbeitsgängen die Antiseren mit geringen ml-Mengen Katzen-Normalserum tropfenweise unter ständigem Rühren versetzt. Nach einer Stunde wurde das Gemisch 15 Minuten lang bei 4.500 U/Min. und 4° C zentrifugiert und danach dem Überstand erneut Katzen-Normalserum zugegeben. Dieser Vorgang wiederholte sich, bis das Mischungsverhältnis 1 : 1 erreicht war.

10. Doppelte zweidimensionale Immundiffusion nach Ouchterlony

10.1. Diffusionstest mit unbehandeltem Antigen

Die Herstellung der Präzipitationsrahmen erfolgte nach GRUBER (1968) unter Verwendung von 2 %iger Agarose als Diffusionsagar. Das Einfüllen des Antigens und der Seren wurde mit einer Eppendorfpipette durchgeführt, wobei in kleine Stanzlöcher je 0,005 ml, in große bei Versuchsmodifikation je 0,03 ml paßten. Die Antiseren wurden konzentriert und in den Verdünnungsstufen 1 : 2 bis 1 : 256 jeweils in die zentralen Löcher der Rosetten gegeben. Reihum wurden im Uhrzeigersinn die verschiedenen Antigene in konzentrierter Form oder in oben erwähnter Verdünnungsreihe in die Löcher gefüllt. Nach 24stündiger, horizontaler Lage in der feuchten Kammer bei Zimmertemperatur wurden die Präzipitationen abgelesen. Nach weiteren 24 Stunden erfolgte die Färbung der Objektträger mit Amidoschwarz (1 g Amidoschwarz, 4,1 g Natrium-Acetat und 30 ml Essigsäure/l). Die Färbezeit betrug je nach Intensität der Präzipitationslinien 10 - 15 Minuten; danach erfolgte eine Entfärbung in 2 %iger Essigsäure.

Im Präzipitationstest wurde das Serum einer an FIP erkrankten Katze gegen eine infektiöse Leberverreibung getestet. Außerdem diffundierten die abgesättigten und nicht abgesättigten Antiseren von Kaninchen und Meerschweinchen gegen konzentrierte, infektiöse und nicht infektiöse Exsudate, gegen infektiöse Leber- und Netzverreibungen sowie als Kontrolle gegen Leber- und Netzverreibungen nicht infizierter Katzen. Ferner wurden die Kaninchen- und Meerschweinchen-Seren gegen Katzenserum von erkrankten und nicht infizierten Tieren und gegen die Fraktionen des ersten Peaks chromatographisch getrennter, infektiöser Leberverreibungen ausgetestet.

10.2. Diffusionstest mit Detergenz behandeltem Antigen

10.2.1. Kreuzreaktionsversuche mit Transmissible Gastroenteritis-Virus-Antigen und -Antiserum

Transmissible Gastroenteritis (TGE)-Virus-Antigen und -Antiserum sind in der Immundiffusion nach Ouchterlony gegen FIP-Antigene und -Antiseren geprüft worden. Der 2 %ige Diffusionsagar wurde wie unter 10.1. beschrieben hergestellt und enthielt 1 % nicht ionisches Detergenz Nonidet NP40 (Dtsch. Shell Chemie GmbH).

Als FIP-Antigene kamen infektiöses Exsudat sowie infektiöse Leber- und Netzverreibungen zur Auswertung. Das Kontrollantigen bildeten Leber- und Netzverreibungen einer nicht infizierten Katze. Das TGE-Antigen bestand aus dem virushaltigen Medium einer infizierten Zellkultur. FIP- und TGE-Antigene wurden im Verhältnis 10 : 1 mit Detergenz verdünnt und eine Stunde bei 37° C inkubiert. Das Detergenz bestand zu gleichen Teilen aus einer 10 %igen Natriumdesoxycholatlösung (Serva, Heidelberg) und einer 10 %igen NP40-Lösung in PBS (pH 7,2).

Im Präzipitationstest wurden folgende Seren getestet. Schweine-Anti-TGE, Kaninchen-Anti-TGE, Kaninchen-Anti-FIP abgesättigt mit Katzen-Normalserum und nicht abgesättigt, Kaninchen-Anti-Katze abgesättigt mit Katzen-Normalleberpulver und nicht abgesättigt, Meerschweinchen-Anti-FIP abgesättigt mit Katzen-Normalserum und nicht abgesättigt sowie das Serum einer Katze aus dem Endstadium der Erkrankung.

10.2.2. Anti-FIP-Seren gegen FIP-Antigen

Mit Katzen-Normalserum abgesättigte Kaninchen- und Meerschweinchen-Seren sowie nicht abgesättigte Kaninchen-Seren wurden in der Rosettendiffusion gegen FIP-Antigene getestet. Die Antigene waren mit 10 %iger Natriumdesoxycholat-NP40-Lösung im Verhältnis 10 : 1 verdünnt. Der Diffusionsagar enthielt 1 % nicht ionisches Detergenz NP40.

Zur Auswertung kamen infektiöse Leber- und Netzverreibungen sowie die entsprechenden Organverreibungen von nicht infizierten Katzen, infektiöse und nicht infektiöse Exsudate, die Seren der dazugehörigen, erkrankten Katzen sowie Katzen-Normalserum.

11. Einfache radiale Immundiffusion nach Mancini

Im Unterschied zur Herstellung der Diffusionsrahmen bei der Präzipitation nach Ouchterlony (10.1.) wurde hierbei anstatt des reinen Diffusionsagars ein Antiserum-Agargemisch aufgetragen (GRUBER, 1968). Dafür wurden 0,5 ml der sechs mit Katzen-Normalserum abgesättigten Meerschweinchenserum auf 3,0 ml mit PBS aufgefüllt. Die 2 %ige Agarose wurde bei Zimmertemperatur vorgequollen, anschließend im kochenden Wasserbad 10 Minuten lang erhitzt und dann auf 56° C heruntergekühlt. Danach erfolgte eine Vermischung der Agarose mit den inzwischen auf 56° C erwärmten Antiseren.

Mit jedem Antiserum-Agargemisch wurden zwei Objektträger ausgegossen. Nach dem Erstarren wurden mit einer 10-Loch-Muster-Stanze (LKB-Produkte AB, Stockholm, Schweden) die Löcher in den Agar gesetzt mit zusätzlich noch je zwei Kontrollöchern zwischen den Reihen. Das Pipettieren der Antigene in die Löcher erfolgte mit Glaskapillaren. Bis zum Ende der Diffusion wurden die Rahmen in eine feuchte Kammer gebracht. Das nicht präzipitierte Eiweiß wurde danach mit physiologischer NaCl-Lösung ausgewaschen. Nach Trocknung der Objektträger erfolgte die Färbung mit Amidoschwarz.

Getestet wurden infektiöse und nicht infektiöse Exsudate, infektiöse Leber- und Netzverreibungen sowie Seren von erkrankten Tieren. Als Kontrolle wurden Leber- und Netzverreibungen sowie Serum eines nicht infizierten Tieres herangezogen. Den Antigenen war in diesem Fall kein Detergenz zugesetzt.

12. Immunelektrophorese

Die Durchführung der Immunelektrophorese erfolgte nach der Modifikation von SCHEIDEGGER (1955) unter Verwendung von 2 %igem Diffusionsagar. Die Stanzung der Rahmen erfolgte so, daß in der Mitte jedes Objektträgers in Längsrichtung ein Graben verlief, an dessen einem Ende sich links und rechts je ein Einfüll-Loch für die Antigene befand. Nach dem Einfüllen der Antigene wurden die Rahmen in die mit Kammerpuffer gefüllte Elektrophoresekammer (CAMAG, Berlin) gelegt, so daß die Kathode auf der Seite der Einfüll-Löcher lag. Fließpapier verband die Rahmen zum Puffer. Bei 250 V und 15 mA verblieben die Rahmen 90 Minuten lang in der Kammer. Nach elektrophoretischer Trennung der Antigene wurden die Antiseren in die Gräben gegeben, und die Rahmen verblieben 24 Stunden in der feuchten Kammer. Danach wurde die Präzipitation abgelesen.

Die mit Katzen-Normalserum abgesättigten und nicht abgesättigten Antiseren von Kaninchen und Meerschweinchen wurden gegen dieselben Antigene wie bei der Immundiffusion nach Mancini getestet. Zusätzlich liefen sie auch noch gegen den im Sepharose-Lauf gewonnenen ersten und zweiten Peak einer infektiösen Katzen-Leberverreißung.

ERGEBNISSE

1. Versuche zur Übertragung und Anzüchtung

1.1. Übertragungsversuche auf Katzen

1.1.1. Generelle Infektiosität

Die Infektionsversuche mit den Bauchhöhlenexsudaten aus der Klinik für kleine Haustiere gelangen nur mit einem Exsudat. Es stammte von einer Siamkatze und rief bei dem Versuchstier ein mit der Felinen Infektiösen Peritonitis identisches Krankheitsbild hervor. Mit demselben Exsudat konnten auch in der Verdünnungsstufe 1 : 2 mit physiologischer NaCl-Lösung bei intraperitonealer Applikation von 1,5 ml gleiche Veränderungen erzielt werden.

Das mit dem zweiten Exsudat infizierte Versuchstier zeigte während einer Beobachtungszeit von fünf Monaten keine Krankheitssymptome.

Im allgemeinen gelangen experimentelle Infektionen lediglich bei intraperitonealen Applikationen. Dabei waren 2 ml 30%iger Organverreibungen aus Leber und Netz immer fähig, FIP hervorzurufen, während von den Exsudaten nur ein geringer Teil die Erkrankung zu induzieren vermochte. Orale, subkutane und intramuskuläre Übertragungsversuche mit intraperitoneal infektiösen Exsudaten gelangen nicht. Lungenverreibung und Serum waren intraperitoneal verabreicht nicht infektiös. In Abbildung 1 sind die Ergebnisse der Übertragungsversuche mit unbehandelten Substraten, behandeltem Exsudat und Sekundärkeimen unter Berücksichtigung der verschiedenen Applikationsrouten schematisch wiedergegeben.

1.1.2. Infektion mit unbehandelten Substraten

Von den zur Infektion verwendeten acht konzentrierten Exsudaten erwiesen sich zwei nach intraperitonealer Applikation als infektiös. Das Versuchstier, dem oral ein i.p.-infektiöses

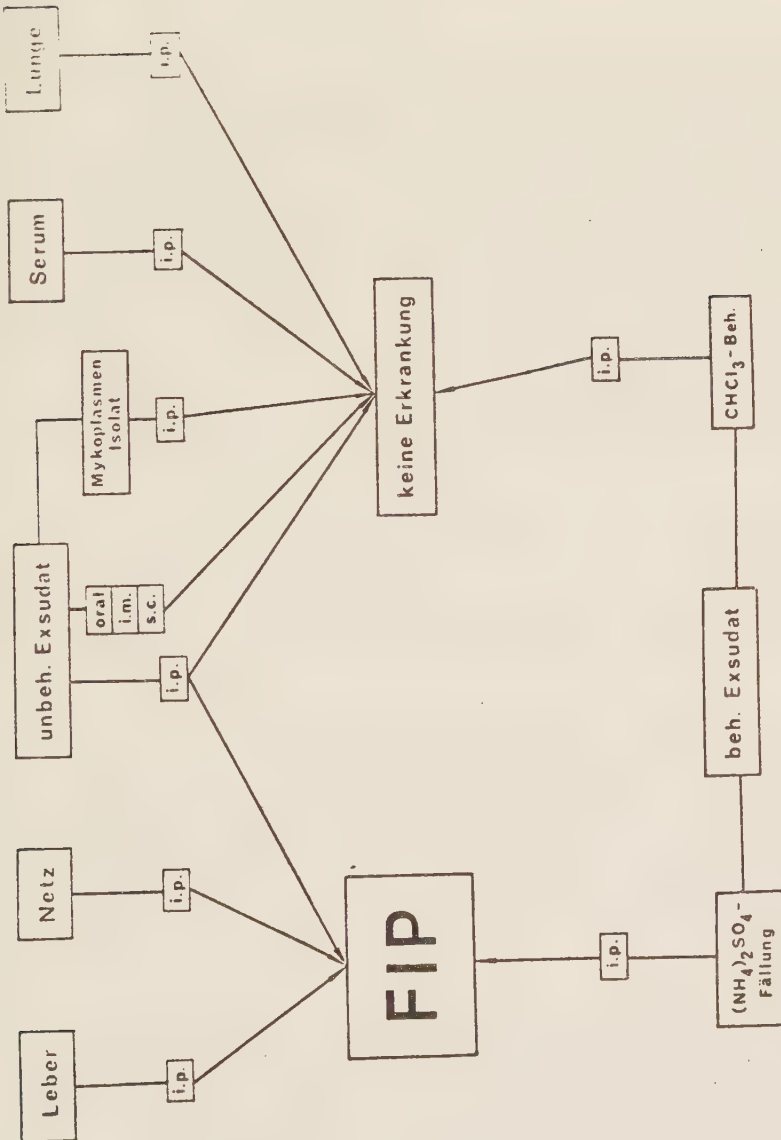


Abb. 1: Infektiosität verschiedener Substrate bei Übertragungsversuchen der FIP von Katze zu Katze

Exsudat verabreicht wurde, zeigte während einer zweiwöchigen Beobachtungszeit keine Krankheitserscheinungen. Als das Tier danach mit demselben Exsudat i.p. infiziert wurde, waren Anzeichen einer Immunitätsausbildung nicht wahrzunehmen; der Krankheitsverlauf war ebenso schnell und heftig wie bei den Versuchstieren, die nur einmal infiziert worden waren. Ein zweites Versuchstier, dem ein infektiöses Exsudat in zweiwöchigem Abstand zweimal subkutan appliziert wurde und zwei Wochen später intramuskulär, zeigte während einer Beobachtungszeit von fünf Wochen keine Krankheitserscheinung. Die spätere i.p. Applikation einer Netzverreibung, die von demselben Versuchstier stammte wie das Exsudat, rief den auch bei anderen Tieren beobachteten Krankheitsverlauf hervor und ließ klinisch auf keine Immunitätsausbildung schließen.

Alle Versuchstiere, die intraperitoneal mit Leber- und Netzverreibungen infiziert wurden, erkrankten an FIP. Infektionsversuche mit Lungenverreibung und Serum verliefen negativ. Die Tiere erkrankten während einer Beobachtungszeit von zwei Monaten nicht.

1.1.3. Infektion mit behandeltem Exsudat

Ein zuvor infektiöses Exsudat verlor diese Eigenschaft nach zweistündiger Behandlung mit Chloroform. Intraperitoneal verabreicht induzierte es die FIP nicht. Dies spricht für eine Chloroformlabilität des Erregers.

Die Fällung des Erregers mit Ammoniumsulfat gelang aus einem infektiösen Exsudat. Das nach der Fällung und der PBS-Dialyse intraperitoneal verimpfte Sediment löste die Erkrankung aus. Somit könnte die Ammoniumsulfatfällung als erste Stufe für einen Reinigungsprozeß des Erregers herangezogen werden.

1.1.4. Sekundärkeime

Die bakteriologische Untersuchung ergab bei acht Exsudaten die Anwesenheit von Sekundärkeimen. Aus dem Exsudat eines verendeten Tieres konnte *Pasteurella multocida* kultiviert werden, was aber auf eine postmortale Kontamination zurückzuführen war. Das Exsudat eines euthanasierten Tieres enthielt *Enterobacter liquefaciens*, ein anderes einen haemolytischen *E. coli*-Stamm. Aus fünf Exsudaten konnten Mykoplasmen angezüchtet werden.

Die intraperitoneale Applikation von 2 ml einer Mykoplasmenbouillon rief bei einem Versuchstier in der Beobachtungszeit von einem Monat keine Krankheitserscheinungen hervor.

1.1.5. Krankheitsbild der experimentell infizierten Tiere

Das klinische Krankheitsbild sowie die pathologischen Befunde waren bei allen erkrankten Tieren einheitlich ausgebildet und glichen den in der Literatur beschriebenen. Eine Geschlechtsdisposition konnte nicht festgestellt werden.

Das klinische Bild der Tiere war vom ersten Fieberanstieg an gekennzeichnet durch zunehmende Apathie, Anorexie, wobei die Futteraufnahme frühzeitig abgebrochen wurde als die Flüssigkeitsaufnahme, und Kachexie zum Ende der Erkrankung. Aszites war ab Mitte der Krankheitsdauer ausgebildet. Auftreten von Pleuritis konnte klinisch nicht diagnostiziert werden. Augenveränderungen wurden nicht wahrgenommen. Die Mehrzahl der Tiere war stark ikterisch.

Die Katzen wurden bei Abfall der Körpertemperatur unter den Normalwert bzw. zum Teil in der Agonie mit Narcoren^R (Mérieux-Rentschler) euthanasiert und entblutet. Fünf Versuchstiere starben an den Folgen der Infektion.

Die Krankheitsdauer betrug bei den fünf verendeten Tieren einmal 11, 13 und 14 Tage sowie zweimal 12 Tage. Bei den euthana-

sierten Tieren lag die Dauer der Erkrankung zwischen 8 und 15 Tagen.

Der erste Fieberanstieg lag bei allen Tieren innerhalb der ersten vier Tage p.i. Die Temperaturen erreichten Werte von $39,6^{\circ}\text{C}$ bis $41,3^{\circ}\text{C}$. Der Temperaturverlauf während der Erkrankung war nicht bei allen Tieren gleich ausgebildet. Bei acht Tieren war ein deutliches Fieberplateau in Höhe des ersten Anstieges erkennbar, während bei dem Rest die Temperaturkurve eingipflig verlief. Auffallend war der Temperaturabfall zum Ende der Erkrankung hin, der mitunter innerhalb der letzten zwei Tage vor dem Tod bis unter die Normalwerte reichte. Bemerkenswert erschienen im Vergleich dazu die noch relativ hohen Temperaturen ($39,3^{\circ}\text{C}$ und $39,6^{\circ}\text{C}$) einen Tag vor dem Tod bei den verendeten Katzen 5 und 15.

In den Abbildungen 2 und 3 ist der Verlauf der Körpertemperaturen von acht experimentell infizierten Katzen dargestellt.

Die Werte der Blutbilder⁺ von acht infizierten Tieren sind aus der Tabelle 2 ersichtlich. Außerdem finden sich dort Angaben über die Körpertemperaturen der Katzen an dem Tag, an dem das Blut für die Messungen entnommen wurde. Als Vergleichswerte stehen abgesehen von den Werten der Kontrollkatze (K3) noch zwei weitere Angaben zur Verfügung. Sie wurden von den entsprechenden Tieren vor den durchgeführten Infektionen ermittelt.

Die Veränderungen im Blutbild wurden besonders deutlich durch den Vergleich der Werte von Katze 13 vor und nach der Infektion. Eine stark ausgeprägte Neutrophilie und Lymphopenie waren hier wie auch bei den anderen Tieren erkennbar. Leukozytose konnte nicht beobachtet werden, eher eine gravierende Leukopenie, wie zum Beispiel bei Katze 5. Dieses Tier bildete im Gegensatz zu

⁺Die Blutuntersuchungen sowie die Bestimmung der Leberenzymwerte und des Eiweißgehalts wurden dankenswerterweise in der Klinik für kleine Haustiere, FU Berlin, durchgeführt.

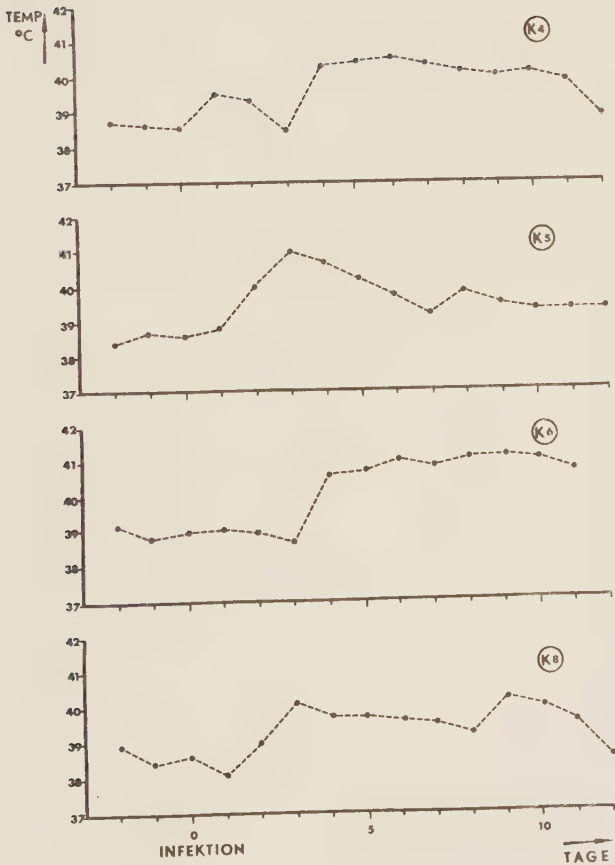


Abb. 2 und 3: Verlauf der Körpertemperaturen von acht mit dem Erreger der FIP experimentell infizierten Katzen

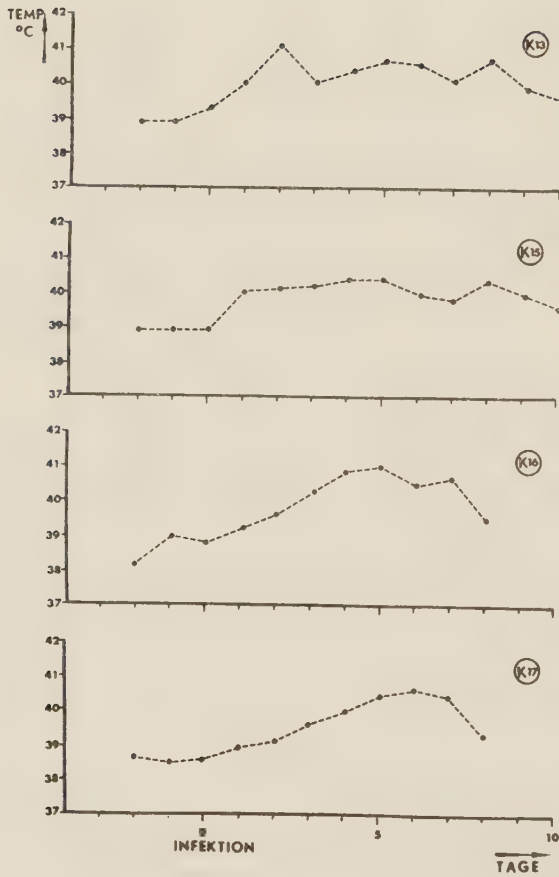


Abb. 3

nicht infizierte Tiere				infizierte Tiere										
K3 m		K1 m	K13 w	K4 m	K5 m	K6 m	K8 m	K13 w	K15 w	K16 m	K17 w			
Tage p.i.				vor Infektion			7	7	10	4	6	6	7	7
Erythrozyten	Mill/mm ³	5.0	6.8	5.75	5.15	5.12	6.54	4.55	6.25	5.78	4.54	4.98	4.44	
Leukozyten	Tsd/mm ³	12.0	16.0	11.0	8.8	8.0	3.5	5.0	12.9	5.5	5.4	8.2	7.4	
Neutrophile Granulozyten	Jugendl. %	0	0	0	0	0	0	2	0	1	12	0	0	
	Stabk. %	0	6	1	6	13	1	27	28	62	45	23	18	
	Segmentk. %	39	55	22	12	85	60	56	70	20	37	60	72	
Eosinophile Granulozyten	%	2	3	3	1	0	0	1	0	0	0	0	0	
Basophile Granulozyten	%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Lymphozyten	%	57	36	73	81	2	31	7	2	17	6	17	10	
Monozyten	%	2	0	1	0	0	8	0	0	0	0	0	0	
Myeloblasten	%	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	
Körpertemp. am Statustag		38.9	38.7	38.8	39.0	40.3	39.3	41.0	39.7	40.7	40.0	40.7	40.4	

Tab. 2: Differentialblutbilder und Körpertemperaturen von acht experimentell infizierten Katzen gegenüber drei nicht infizierten Tieren (m = männlich, w = weiblich)

den anderen Katzen eine Monozytose aus. Eine starke Verminderung der Erythrozyten ließ sich bei keinem Tier feststellen. Bei Katze 6 waren im Vergleich zu den anderen Tieren die Myeloblasten prozentual erhöht.

Die Untersuchung der Leberenzymwerte ergab eine Erhöhung der Glutamat-Pyruvat-Transaminase (0.98 Büchner Einheit (BE) und 1.35 BE bei zwei Versuchstieren gegenüber 0.49 BE beim Kontrolltier) und der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (1.23 BE und 2.86 BE gegenüber 0.37 beim Kontrolltier) sowie eine Erniedrigung der alkalischen Phosphatase (1.2 King-Armstrong' Einheit (KAE) und 0.31 KAE gegenüber 2.3 KAE beim Kontrolltier).

Der Eiweißgehalt in den Seren von den acht an FIP erkrankten Katzen lag zwischen 5,6 und 6,6 g% gegenüber 6,2 und 7,9 g% bei den Kontrolltieren. Im Gegensatz dazu war der Eiweißgehalt in den Exsudaten zum Teil geringer. Er lag zwischen 2,4 und 5,4 g%.

1.1.6. Pathologische Untersuchung⁺⁺

Bei der pathologisch-anatomischen Untersuchung fiel der stark ausgeprägte Aszites auf (Abb. 4 und 5). Die Organe "schwammen" regelrecht in einem zitronengelben bis bernsteinfarbenen, serofibrinösen Exsudat, das nach Eröffnung der Bauchhöhle zu gerrinnen begann. Die Exsudatmenge schwankte zwischen 15 ml und 260 ml. Sie schien von der intra vitam subkutan verabreichten Sterofundinmenge^R (B. Braun, Melsungen) abhängig zu sein - die Tiere, die kein Sterofundin^R erhalten hatten, wiesen geringere Mengen Bauchhöhlenexsudat auf als die Tiere, die mit Sterofundin^R behandelt worden waren.

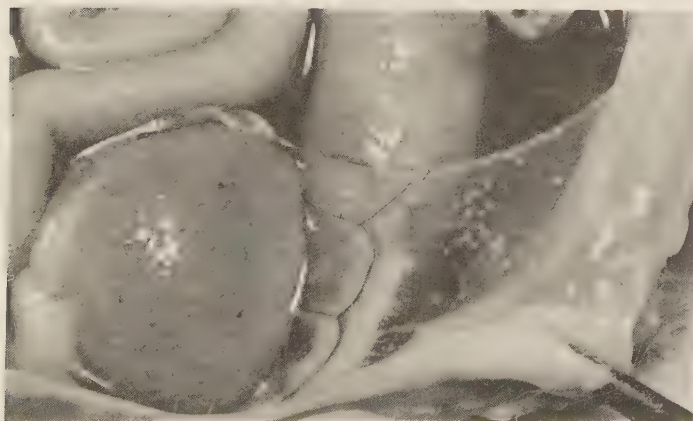
Das pathologisch-anatomische Bild wurde durch eine fibrinöse

⁺⁺Mein Dank gilt den Mitarbeitern des Instituts für Veterinär-Pathologie für ihre stets hilfreich gewährte Unterstützung.



Abb. 4: Bauchhöhlenorgane in situ einer experimentell infizierten Katze. Sero-fibrinöses Exsudat in der Bauchhöhle, aufgegastrs Rektum und seitlich verlagertes, zusammengeklumptes Netz.

Abb. 5: Ausschnittvergrößerung von Abb. 4. Mediales Harnblasenband übersät mit multiplen, grauweißlichen, fibrinösen Herden.



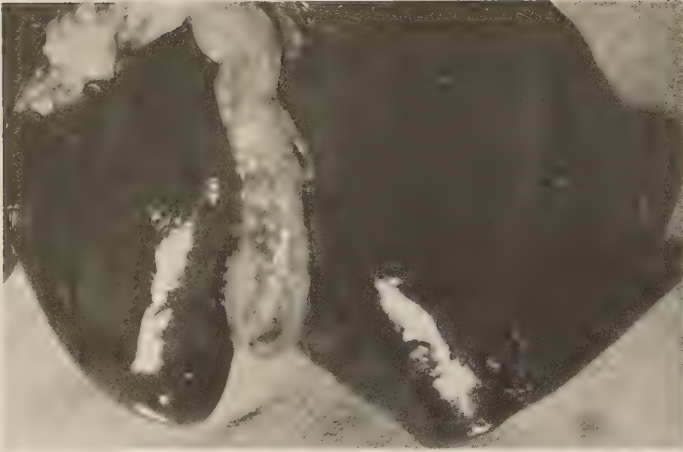


Abb. 6: Leber nach Exenteration. Leberschwellung, periphere Leberzelldegeneration. Gallenblase mit grauweißen, fibrinösen Auflagerungen.



Abb. 7: Jejunumschlinge nach Exenteration. Gallertig verdicktes Mesenterium mit multiplen, grauweißen, fibrinösen Herden.

Entzündung des parietalen und viszerale Peritoneums geprägt. Das stark gefäßinjizierte Peritoneum und die serösen Überzüge von Leber, Gallenblase (Abb. 6), Milz, Pankreas, Darm und Harnblase (Abb. 4, 5 und 7) zeigten eine trübe und rauhe Oberfläche. Sie waren von einer dünnen, grauweißlichen, fibrinösen Schicht überzogen und/oder waren multipel von graugelblichen bis zu linsengroßen, fibrinösen Herdchen übersät. Gleichartige fibrinöse Herde fanden sich in dem gallertig verdickten Omentum majus. Die Mesenteriallymphknoten wiesen in jedem Fall eine deutliche Schwellung auf. Koprostase im Enddarm war ein regelmäßig wiederkehrender Befund.

Bei der histopathologischen Untersuchung ließ sich erkennen, daß die fibrinöse Entzündung nicht nur auf die Serosen beschränkt blieb, sondern daß auch die subserösen Parenchymschichten von Leber, Milz und Pankreas sowie die Muskulatur des Darmes mit in den entzündlichen Prozeß einbezogen waren. Daneben traten disseminierte Nekrosen in Leber, Milz und Pankreas auf, die teilweise bereits mit einer deutlichen leukozytären Reaktion einhergingen. Dabei waren die oberflächlichen Parenchymschichten deutlicher geschädigt als die tiefliegenden. Die Schwellung der Mesenteriallymphknoten erwies sich als nekrotisierende Lymphadenitis.

Bei männlichen Tieren konnten neben den genannten Befunden eine fibrinöse, teils nekrotisierende Periorchitis und Orchitis beobachtet werden.

Eine fibrinöse Pleuritis trat nur bei einer Katze auf. Die Untersuchung des Gehirns und der Gelenke erbrachte keinen besonderen Befund.

1.2. Übertragungsversuche auf Hamster und Mäuse

Die vier Goldhamster, denen intraperitoneal ein infektiöses Exsudat einer an FIP erkrankten Versuchskatze appliziert worden war, zeigten nach 11 und 34 Tagen Beobachtungszeit keine

Krankheitssymptome. Pathologisch-anatomisch ließen sich keine Veränderungen feststellen.

Von den insgesamt 40 Säuglingsmäusen, die intraperitoneal und intracerebral mit infektiösen Leberverreibungen infiziert worden waren, verendeten zwei 24 Stunden p.i. unspezifisch. Da die restlichen Tiere während einer Beobachtungszeit von fünf Wochen keine Krankheitssymptome zeigten, wurden sie getötet. Bei der Sektion der Tiere waren makroskopisch keine pathologischen Veränderungen wahrzunehmen, die auf eine Haftung der Infektion wiesen.

1.3. Anzüchtungsversuche in Zellkulturen

Primäre Nieren-, Lungen-, Hoden- und Knochenmark-Zellkulturen von jungen, nicht infizierten Katzen waren mit infektiösen und nicht infektiösen Exsudaten sowie Organverreibungen von an FIP erkrankten Tieren beimpft worden. Nach sechs Tagen Beobachtungszeit zeigte der Zellrasen der beimpften Zellkulturen, aber auch der der nicht beimpften Kontroll-Kulturen einen unspezifischen Abkugelungseffekt. Zu diesem Zeitpunkt wurden die Zellen durch Einfrieren bei -80°C und anschließendes Auftauen aufgeschlossen. Das Medium diente mit dem Zelldetritus als Beimpfungsmaterial für eine zweite Zellkulturpassage. Nachdem in zwei weiteren Blindpassagen während einer Beobachtungszeit von 8 Tagen keine Zellveränderungen auftraten, die auf eine Virusvermehrung hindeuteten, wurden diese Versuche abgebrochen.

Die primäre Nieren-Zellkultur einer an FIP erkrankten Katze zeigte 8 Tage nach der Aussaat keine Veränderungen. Der Versuch der Rückübertragung auf primäre Nieren-Zellkulturen einer nicht infizierten Katze verlief erfolglos.

Die mit infektiösem Exsudat beimpfte Katzennieren-Zellkultur, die nach 5 Tagen Beobachtungszeit abtrypsiniert und mit Nierenzellen einer nicht infizierten Katze erneut ausgesät worden war, zeigte nach einer Beobachtungszeit von 8 Tagen keine Zell-

veränderungen, die auf einen zytopathischen Effekt schließen lassen konnten.

Der Versuch der Anzüchtung des Erregers aus Peritonealzellen eines infektiösen Exsudates unter Verwendung von L 15-Medium sowie das Anlegen von Organkulturen aus Mesenterium, V. cava caudalis und Niere verliefen ebenfalls erfolglos.

1.4. Anzüchtungsversuche in Eiern

Die mit Exsudat beimpften Hühnereier zeigten nach sieben Tagen Bebrütungsdauer weder Veränderungen am Embryo noch an den Eihäuten. Die gewonnene Allantoishöhlenflüssigkeit rief in der zweiten Eipassage während einer Bebrütungsdauer von 7 Tagen ebenfalls keine Veränderungen an Embryo und Eihäuten hervor, die auf eine Virusvermehrung hindeuteten.

Hämagglutinationstests mit Allantoishöhlenflüssigkeit unter Verwendung von Hammel-, Meerschweinchen- und Hühner-Erythrozyten verliefen negativ.

1.5. Zusammenfassende Betrachtung der Übertragungs- und Anzüchtungsversuche

Wie die Übertragungsversuche auf Hamster und Mäuse sowie die Anzüchtungsversuche in Zellkulturen und embryonierten Eiern zeigten, blieb die Katze das einzige Wirtssystem, in dem das infektionstüchtige Agens übertragen und pathologische Veränderungen nachgewiesen werden konnten.

Trotz der Ergebnislosigkeit der Versuche ist in Betracht zu ziehen, daß eine mögliche Virusvermehrung auch ohne Auftreten eines zytopathischen Effektes in Zellkulturen oder pathologischer Veränderungen in kleinen Versuchstieren und in embryonierten Hühnereiern vorhanden sein kann. Daraus ergab sich die Frage, welche serologischen Methoden für den Nachweis

von Virusantigen in infizierten Organen und Geweben bzw. in Zellkulturen herangezogen werden konnten.

2. Versuche zur Auffindung diagnostischer Methoden

Für eine mögliche serologische Diagnostik der Feline Infektiösen Peritonitis standen als Reaktionspartner zunächst Organe infizierter Katzen (Antigen) sowie Katzenseren, die im Endstadium der Erkrankung gewonnen worden waren, zur Verfügung. Mit ihnen wurde die Eignung der Immunfluoreszenz, der Komplementbindungsreaktion und der Präzipitation nach Ouchterlony überprüft.

Da sich die relative Empfindlichkeit virusserologischer Reaktionen (HORZINEK, 1975) aus der Mindestmenge an Antikörpern ergibt, die für die einzelnen Reaktionsgeschehen erforderlich sind, war anzustreben, hochwertige Immunseren gegen FIP zu gewinnen. Dafür wurden Kaninchen und Meerschweinchen mit konzentriertem und partiell gereinigtem Antigen-Material von an FIP erkrankten Katzen immunisiert und ihre Seren für Diagnostikversuche in der KBR, der Immundiffusion und der Immunelektrophorese verwendet.

2.1. Immunfluoreszenz

Mit dem an Fluoreszeinisothiocyanat gekoppelten Immunserum einer an FIP erkrankten Katze war weder in primären Katzen-nieren-Zellkulturen, die mit einem infektiösen Exsudat beimpft waren, noch in primären Nieren-Zellkulturen eines an FIP erkrankten Tieres eine spezifische Immunfluoreszenz nachweisbar.

2.2. Komplementbindungsreaktion

Die in der KBR getesteten vier Immunseren von an FIP erkrankten Katzen sowie das Serum eines immunisierten Kaninchens

zeigten nach 18stündiger Bindungszeit an Komplement und Antigen und nach ein- bzw. zweistündiger Inkubationszeit des hämolytischen Systems keine Hämolysehemmung.

2.3. Partielle Reinigung des Antigens

Die für die Gewinnung von ballastarmem Antigen auf eine Sepharose 4B K 26/100 Säule aufgetragenen, infektiösen Leberverreibungen sowie ihre Kontrollen aus Leberverreibungen von nicht infizierten Tieren zeigten bei der photometrischen Messung der einzelnen Fraktionen Kurvenverläufe, wie sie in Abbildung 8 dargestellt sind. Eine erste Bande trennte sich regelmäßig nach kurzer Zeit sichtbar in der Säule von den übrigen Fraktionen ab und war bei einer Durchflußgeschwindigkeit von 15 - 20 ml/h vier bis sechs Stunden nach Beschickung der Säule durchgelaufen. Der ansteigende Schenkel des ersten Peaks war bis zur Hälfte klar, es folgte eine trübe Fraktion bis über die Kuppe hinaus. Der untere Teil des absteigenden Schenkels war wiederum klar. Danach folgte ein zweiter Peak mit klaren, roten Fraktionen und nach einem Tal abschließend ein dritter, gelblich gefärbter Peak.

Die Infektionsversuche an Katzen ergaben, daß mit den Fraktionen vom ersten und zweiten Peak nach intraperitonealer Applikation die Übertragung der FIP gelang. Nicht infektiös waren der dritte Peak und das Tal zwischen dem ersten und zweiten Peak. Die Versuche zeigen, daß der Erreger im Ausschlußpeak zusammen mit grobpartikulären Bestandteilen der Zellen mitläuft. Inwieweit allerdings der Gehalt an Virusmaterial im zweiten Peak eine echte Abtrennung darstellt oder auf Schmiereffekte beim Auslauf aus der Säule zurückzuführen ist, konnte nicht ermittelt werden, da die Peaks lediglich qualitativ auf Infektiosität untersucht wurden.

Mit den Fraktionen des Eluats wurde versucht, Kaninchen und Meerschweinchen zu immunisieren. Ein Kaninchen wurde mit dem

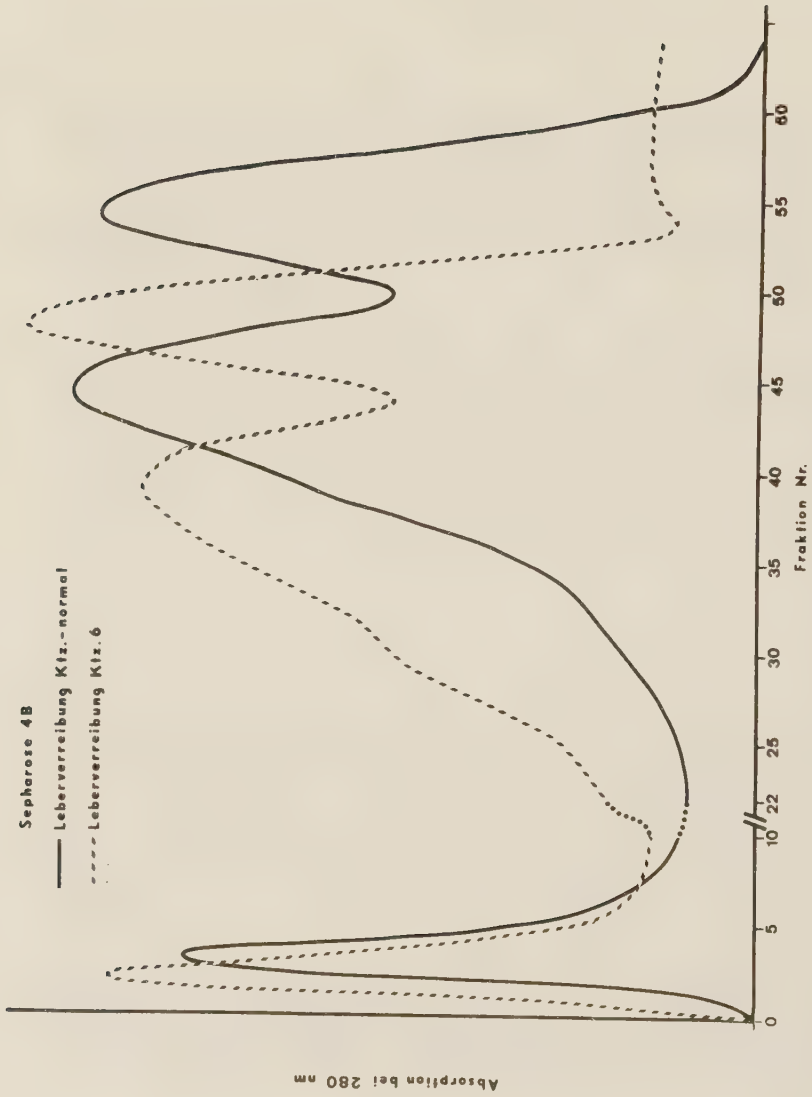


Abb. 8: Auftrennung von Leberverreibungen einer gesunden und einer an FIP erkrankten Katze an Sephadex 4B

ersten Peak einer chromatographisch getrennten Leberverreibung von einer nicht infizierten Katze immunisiert. Das später gewonnene Serum galt als Kontrollserum. Zwei weitere Kaninchen wurden mit den Fraktionen der ersten Peaks infektiöser Leberverreibungen immunisiert. Für die Immunisierung eines vierten Tieres wurden die Fraktionen von zwei ersten Peaks einer infektiösen Leberverreibung lyophilisiert und danach in Aqua dest. gelöst und in Verbindung mit Freund's inkomplettem Adjuvans appliziert.

Zwei Meerschweinchen wurden jeweils mit den Fraktionen des ersten und zweiten Peaks einer infektiösen Leberverreibung immunisiert.

2.4. Immundiffusion und Immunelektrophorese mit Antigen ohne Detergenzbehandlung

Im Diffusionstest nach Ouchterlony wurden Katzen-, Kaninchen- und Meerschweinchen-Seren verwendet, die einmal durch Immunisierung mit ungereinigtem FIP-Antigen (Kan 1 u. 2, Me 1 - 4) und zum anderen durch Immunisierung mit partiell gereinigtem Antigen (Kan 3 - 6, Me 5 u. 6) gewonnen wurden.

Das im Endstadium der Erkrankung gewonnene Serum einer Katze, die zuvor subkutan, intramuskulär und intraperitoneal infiziert worden war (siehe unter 1.1.2.), ergab gegen eine infektiöse Leberverreibung keine Präzipitation.

Die Seren der mit infektiöser Leberverreibung (Kan 1) und einem nicht infektiösen Exsudat (Kan 2) immunisierten Kaninchen zeigten gegen verschiedene, konzentrierte und bis zu 1 : 32 verdünnte, infektiöse und nicht infektiöse Exsudate, Seren, Netz- und Leberverreibungen an FIP erkrankter Tiere in Einfach- oder Mehrfachbanden. Diese Linien gingen in die jeweiligen Präzipitatbildungen über, die zwischen denselben Kaninchen-Seren und Netz- sowie Leberverreibungen nicht

infizierter Katzen und Katzen-Normalserum ausgebildet waren. Zudem bildeten sich die Linien nach Absättigung der Seren viel schwächer aus, so daß es nicht möglich war, FIP-spezifische von unspezifischen Präzipitationsbanden zu unterscheiden.

Die Seren der vier Meerschweinchen, die jeweils mit einer infektiösen Netz- und Leberverreibung (Me 1 u. 2) sowie mit einem infektiösen und nicht infektiösen Exsudat (Me 3 u. 4) immunisiert worden waren, präzipitierten sehr schwach in Einfach- oder Mehrfachbanden gegenüber infektiösen Leber- und Netzverreibungen, infektiösem und nicht infektiösem Exsudat sowie Serum einer erkrankten Katze. Die Präzipitatbildungen gingen in die Linien der Kontrollen aus Leber- und Netzverreibung sowie Katzen-Normalserum über und traten nach Absättigung der Seren nicht mehr auf.

Das Serum eines Kaninchens (Kan 3), das mit den Fraktionen des ersten Peaks einer über Sepharose 4B aufgetrennten, infektiösen Leberverreibung immunisiert worden war, präzipitierte gegen Seren, Netz- und Leberverreibungen an FIP erkrankter Tiere und gegen konzentrierte bis 1 : 256 verdünnte, infektiöse und nicht infektiöse Exsudate in Einfach- oder Mehrfachbanden. Die Präzipitatbildungen waren auch gegenüber den jeweiligen Kontrollen ausgebildet. Nach Absättigung der Seren zeichneten die Seren so schwach, daß zwischen FIP-spezifischen und unspezifischen Präzipitationsbanden keine Unterscheidung möglich war.

Nachdem ein Kaninchen (Kan 4) mit den lyophilisierten Fraktionen von zwei ersten Peaks einer infektiösen Leberverreibung immunisiert worden war, zeichnete sein Serum in gleichen, nur schwächer ausgebildeten Präzipitationslinien, wie die durch Immunisierung mit ungereinigtem FIP-Antigen gewonnenen Kaninchen-Seren.

Das Serum (Kan 5) des mit den Fraktionen des ersten Peaks einer anderen, infektiösen Leberverreibung immunisierten

Kaninchens präzipitierte in keinem der Diffusionstests. Ebenso verhielt sich das Serum eines Kaninchens (Kan 6), das durch Immunisierung mit chromatographisch getrennter Normal-Leberverreibung gewonnen worden war.

Zwei Meerschweinchen-Seren (Me 5 u. 6), die nach Immunisierung der Tiere mit den Fraktionen des ersten und zweiten Peaks einer infektiösen Leberverreibung gewonnen wurden, präzipitierten in keinem der Versuche.

Kaninchen- sowie Meerschweinchen-Seren zeichnen nicht gegen die Fraktionen des ersten Peaks chromatographisch getrennter, infektiöser Leberverreibungen.

Da die verwendeten Meerschweinchen-Seren im Immundiffusionstest nach Ouchterlony sehr schwach oder gar nicht zeichnen, wurde die wesentlich empfindlichere, radiale Immundiffusion nach Mancini durchgeführt. Dabei waren die sechs Meerschweinchen-Seren mit Katzen-Normalserum abgesättigt. In diesen Versuchen zeichnen alle infektiösen Leberverreibungen wie ihre Kontrollen. Mit den restlichen Substanzen (Netzverreibungen, Exsudaten und Seren) war keine Präzipitation nachweisbar.

Weder mit der Immundiffusion nach Ouchterlony noch mit der nach Mancini konnte eine eindeutige Aussage über ein FIP-spezifisches, präzipitierendes Antigen gemacht werden. Da auch noch nach Absättigung der Antiseren zum Teil Präzipitationslinien auftraten, sollte die Möglichkeit ausgeschaltet werden, daß sich in dem beschränkten Raum zwischen zwei Gellöchern eventuell Präzipitationslinien überlagern könnten und Spezifitäten dadurch nicht erkennbar werden. Deshalb wurde vor der Immundiffusion eine elektrophoretische Auftrennung der Antigen-Substanzen versucht. Hierbei wurden die Antigene und ihre Kontrollen in die zur Kathode gelegenen Stanzlöcher gefüllt. Nach der Elektrophorese erfolgte die Eingabe der Immunseren in die Gräben zwischen den Antigen-Löchern.

Nach elektrophoretischer Auftrennung von Exsudat, Serum, Leber- und Netzverreibung eines an FIP erkrankten Tieres bildeten sich Präzipitationsbögen aus zwischen den Antigenen und einem Kaninchen-Serum (Kan 1), das nach Immunisierung mit infektiöser Leberverreibung gewonnen worden war. Mit Ausnahme der Netzverreibungen trat das gleiche Präzipitationsbild auch gegenüber den jeweiligen Kontrollen auf. Wie aus Abbildung 9 ersichtlich, zeichnete das nicht abgesättigte Kaninchen-Serum gegenüber einer infektiösen Netzverreibung in mehreren Präzipitationsbanden, die in der gleichen Anzahl nicht gegenüber einer Normal-Netzverreibung auftraten. Nach Absättigung des Kaninchen-Serums mit Katzen-Normalserum waren die Präzipitationsbögen jedoch nicht mehr erkennbar.

Das Serum des Kaninchens (Kan 2), das mit einem nicht infektiösen Exsudat immunisiert worden war, präzipitierte gegen elektrophoretisch aufgetrennte Antigen in gleichartigen Bögen wie gegen die entsprechenden Kontrollen.

Die Seren der vier Meerschweinchen, die jeweils mit einer infektiösen Netz- und Leberverreibung (Me 1 u. 2) sowie mit einem infektiösen und nicht infektiösen Exsudat (Me 3 u. 4) immunisiert worden waren, präzipitierten in schwachen Bögen gegenüber Netz- und Leberverreibungen, Serum und Exsudat an FIP erkrankter Tiere, die in gleicher Weise auch gegenüber den Kontrollen ausgebildet waren. Nach Absättigung der Seren erschienen lediglich gegenüber infektiösen und nicht infektiösen Leberverreibungen schwache Präzipitationsbögen.

Das Serum eines Kaninchens (Kan 3), das mit den Fraktionen des ersten Peaks einer über Sepharose 4B aufgetrennten Leberverreibung immunisiert worden war, zeichnete gegenüber Serum, Netz- und Leberverreibung eines an FIP erkrankten Tieres. Wie aus Abbildung 10 ersichtlich, trat ein Präzipitationsbogen gegenüber infektiöser Netzverreibung auf, der in der Kontrolle nicht ausgebildet war. Nach Absättigung des Serums mit Katzen-Normalserum war die Präzipitation als kaum erkenn-

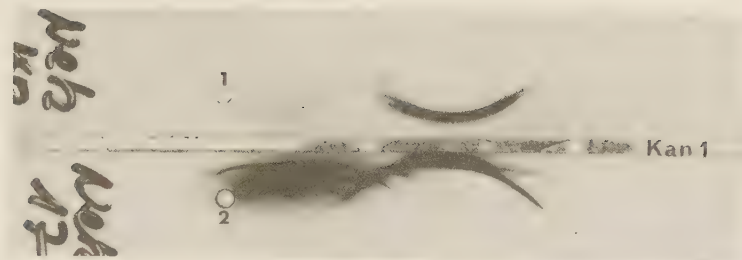


Abb. 9

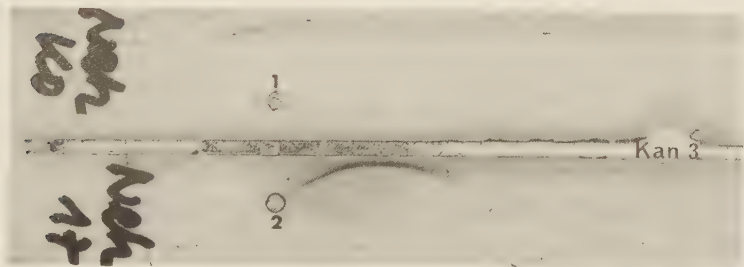


Abb. 10

Abb. 9 und 10: Immunelektrophoretische Auftrennung von Netzverreibungen einer gesunden (1) und einer an FIP erkrankten Katze (2). Die Gräben enthielten Kaninchen-Anti-FIP-Seren, die einmal nach Immunisierung mit infektiöser Leberverreibung (Kan 1) und zum anderen nach Immunisierung mit partiell gereinigter, infektiöser Leberverreibung (Kan 3) gewonnen wurden.

bare Doppelbande vorhanden. Die Präzipitatbildung gegenüber den anderen Antigenen war dieselbe wie gegenüber den entsprechenden Kontrollen.

Die Seren der Meerschweinchen (Me 5 u. 6), die nach Immunisierung mit chromatographisch getrennter Leberverreibung gewonnen worden waren, zeigten jeweils einen schwachen Präzipitationsbogen gegenüber infektiösen Leberverreibungen, der in den Kontrollen ebenfalls auftrat.

Kaninchen- und Meerschweinchen-Seren zeigten nicht gegen die Fraktionen der ersten beiden Peaks chromatographisch getrennter, infektiöser Leberverreibungen.

2.5. Immundiffusion mit Detergenz behandeltem Antigen

Wenn es sich bei dem Erreger der FIP, wie in der Literatur vermutet wurde, um ein Coronavirus handelt, könnte eine antigene Verwandtschaftsbeziehung zu anderen Vertretern dieser Virusgruppe bestehen. Deshalb wurden Kreuzreaktionsversuche mit Transmissible Gastroenteritis (TGE)-Virus-Antigen und -Antiserum im Immundiffusionstest nach Ouchterlony durchgeführt.

Hierbei entstanden virusspezifische Präzipitationsbanden zwischen dem TGE-virushaltigen Medium einer infizierten Zellkultur und Schweine-Anti-TGE- sowie Kaninchen-Anti-TGE-Serum. Die Anti-TGE-Seren zeigten nicht gegen FIP-Antigene und die gegen FIP gerichteten Seren ebenfalls nicht gegen TGE-Antigen.

Hingegen waren Präzipitationslinien zwischen Kaninchen-Anti-FIP-Seren und Exsudat, Leber- sowie Netzverreibungen an FIP erkrankter Tiere deutlich sichtbar. Da diese Präzipitatbildungen in den vorhergehenden Immundiffusions- und Immunelektrophorese-Versuchen nicht so eindeutig aufgetreten waren, ist hier ihre bessere Ausbildung auf die Detergenzbehandlung der Antigene und des Diffusionsagars zurückzuführen.

Das Serum eines Kaninchens (Kan 1), das nach Immunisierung mit infektiöser Leberverreißung gewonnen worden war, besaß dabei die besten präzipitierenden Eigenschaften (siehe Abb. 11 bis 13). Dies ist besonders aus Abbildung 11 ersichtlich, wo das mit Katzen-Normalserum abgesättigte Kaninchen-Serum eine eindeutige Präzipitationslinie gegen Leber- und Netzverreißungen zeichnet. Diese Linie tritt bei den Kontrollen nicht auf.

Wie die Abbildung 12 zeigt, entstand bei der Diffusion des bei Übertragungsversuchen auf Katzen nicht infektiösen Exsudates der Katze 17 gegen das nicht abgesättigte Kaninchen-Serum eine Präzipitationslinie, die als FIP-spezifisch angesehen werden konnte, da sie nicht in die Präzipitationslinien des Katzen-Normalserums überläuft, sondern diese schneidet. Ebenso verhält sie sich zu den Präzipitatbildungen des Serums der Katze 17. Ein Übergang der Präzipitationsbande in die der Netzverreißung einer nicht infizierten Katze ist nicht gegeben.

Vier gegen das nicht abgesättigte Kaninchen-Serum getestete Netzverreißungen an FIP erkrankter Tiere ergaben mehrere Präzipitationslinien (Abb. 13), von denen mindestens eine eindeutig nicht in die Linien der Normal-Netzverreißungen überläuft. Bei den Netzverreißungen von Katze 17 und 19 ist diese Linie besonders deutlich ausgeprägt und noch eine zweite Linie erkennbar. Analog zur Abbildung 11, wo nach Absättigung des Kaninchen-Antiserums eine spezifische Linie bestehen bleibt, kann die mit Pfeilen gekennzeichnete Linie in der Abbildung 13 als eigentlich spezifische Linie interpretiert werden.

Die abgesättigten Meerschweinchen-Seren zeichneten in keinem der Präzipitationsversuche FIP-spezifisch.



Abb. 11

Abb. 11 - 13: Immundiffusionstests zum Nachweis von FIP-Antigen. (—) FIP-spezifische Präzipitationslinie.

Die einzelnen Löcher enthalten:

Abb. 11: Mit Katzen-Normalserum abgesättigtes Kaninchen-Serum (1), TGE-Antigen (virushaltiges Medium einer infektiösen Zellkultur) (2), Netzverreibung Katze 19 (3), Netzverreibung (4) und Leberverreibung (5) Katze normal, Leberverreibung Katze 19.

Abb. 12: Nicht abgesättigtes Kaninchen-Serum (1), Netzverreibung Katze normal (2), Serum Katze 17 (3), Exsudat Katze 17 (4), Katzen-Normalserum (5).

Abb. 13: Nicht abgesättigtes Kaninchen-Serum (1), Netzverreibung Katze normal (2), Netzverreibungen der Katzen 17 (3), 19 (4), 6 (5) und 8 (6).

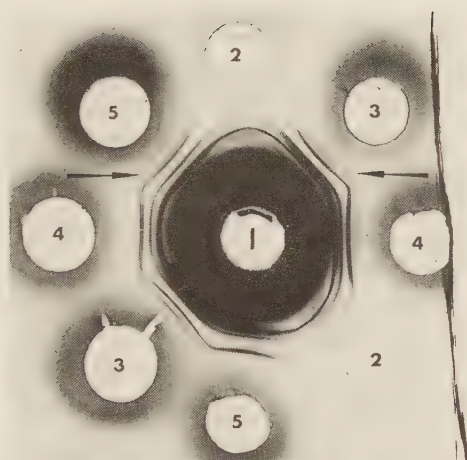


Abb. 12

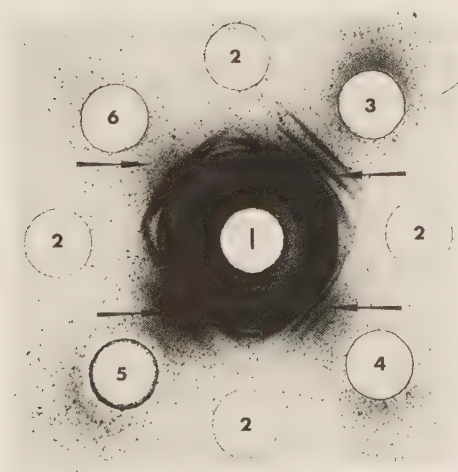


Abb. 13

IV. Diskussion

Die Feline Infektiöse Peritonitis (FIP) ist nach Angaben von WARD et al. (1968), HARDY und HURVITZ (1971) sowie TUCH, WITTE und WÜLLER (1974) als eine infektiöse Viruserkrankung anzusehen, von der durch elektronenmikroskopische Untersuchungen angenommen wird, daß ihr ursächliches Agens zur Coronavirus-Gruppe gehört (HARDY und O'REILLY, 1969; WARD, 1970; WARD, GRIBBLE und DUNGWORTH, 1974; OSTERHAUS, HORZINEK und ELLENS, 1976). Da der Infektionsverlauf am Tier und die Epizootiologie der Erkrankung noch weitgehend unbekannt sind, konnten bisher ausschließlich pathologisch-anatomische und -histologische Befunde für die endgültige Diagnosestellung herangezogen werden.

Für die vorliegende Arbeit wurde versucht, den Erreger der FIP in verschiedenen Wirtssystemen anzuzüchten und ihn mit Hilfe serologischer Methoden zu diagnostizieren. Für die Anzüchtung des Erregers wurden einerseits Übertragungsversuche auf Katzen, Hamster und Mäuse durchgeführt und zum anderen die Züchtung in Zellkulturen und embryonierten Hühnereiern versucht. Die Immunfluoreszenz, die Komplementbindungsreaktion, die Immundiffusion und Immunelektrophorese sind als serologische Nachweismethoden erprobt worden.

Nur Katzen waren in den Infektionsversuchen für die FIP empfänglich. Nicht pathogen war der Erreger für ausgewachsene Hamster und Säuglingsmäuse. Auch Kaninchen und Meerschweinchen zeigten bei Immunisierungsversuchen mit infektiösem Material keine Krankheitssymptome. Das Wirtsspektrum des Erregers der FIP scheint somit eng und nur auf die Familie Felidae beschränkt zu sein.

Die Übertragbarkeit der FIP von Katze zu Katze durch intraperitoneale Infektion bestätigte sich. Die Übertragung gelang stets mit Verreibungen von Leber und Netz an FIP erkrankter Tiere

bei intraperitonealer Inokulation. Demgegenüber erwies sich zu Beginn der Untersuchungen von zwei aus natürlich erkrankten Katzen stammenden Exsudaten nur eins bei intraperitonealer Applikation als infektiös. Weitere Tierversuche ergaben, daß von neun intraperitoneal verabreichten Exsudaten nur zwei die Erkrankung zu induzieren vermochten.

Bei den Übertragungsversuchen erschien neben der Frage der Virulenz der einzelnen Peritonealfüssigkeiten auch die Inokulationsroute von Bedeutung zu sein. So gelang mit einem intraperitoneal infektiösen Exsudat bei subkutaner, intramuskulärer und oraler Applikation die Induktion der Erkrankung nicht. Eine eindeutige Erklärung für die unterschiedlichen Ergebnisse dieser Übertragungsversuche im Vergleich zu den Berichten von HARDY und HURVITZ (1971) konnte nicht gefunden werden. Denkbar ist, daß die Menge infektiöser Viruspartikeln im Exsudat sehr gering ist und daß deshalb die wenigen infektiösen Partikeln bei subkutaner, intramuskulärer und oraler Inokulation nicht so günstige Bedingungen für eine Vermehrung vorfinden wie nach intraperitonealer Applikation. Zum anderen wäre es möglich, daß sich auf Grund der geringen Infektiosität bei subkutaner, intramuskulärer und oraler Verabreichung die Inkubationszeit über mehrere Wochen erstreckt, der von HARDY und O'REILLY (1969) vermuteten Dauer von ca. vier Monaten bei natürlicher Infektion entspricht und somit bei den vorliegenden Versuchen nicht erfaßt wurde. Wahrscheinlich findet auch wegen der geringen Infektiosität des Exsudates keine oder eine nur unzureichende Bildung von Antikörpern in den infizierten Tieren statt. Bei zwei Tieren zeigten nachfolgende intraperitoneale Infektionen einen ebenso schnellen und heftigen Krankheitsverlauf wie bei den einmalig intraperitoneal infizierten Tieren.

Die Morbiditätsrate der FIP ist unter experimentellen Bedingungen gering. In der über 12 Monate im geschlossenen Raum gehaltenen Katzenpopulation erkrankten weder das während dieser Zeit in Kontakt mit den experimentell infizierten Katzen

lebende Kontrolltier noch die zwischenzeitlich nicht infizierten Tiere. Wahrscheinlich hatten sich diese Tiere überhaupt nicht mit dem Erreger der FIP in größerem Umfang auseinandergesetzt. Sie ließen sich experimentell ebenso infizieren wie die Tiere, die keinen längeren Kontakt mit den erkrankten Katzen gehabt hatten.

Klinisch sowie pathologisch-anatomisch glich die in Katzen experimentell erzeugte Erkrankung dem in der Literatur beschriebenen Bild der Feline Infektiösen Peritonitis. Dabei entsprachen die Inkubationszeit, die Symptome und die absolute Letalität den von zahlreichen Autoren gemachten Beobachtungen.

Der erste Fieberanstieg lag bei allen Tieren innerhalb der ersten vier Tage p.i. Die Temperaturen erreichten Werte von $39,6^{\circ}\text{C}$ bis $41,3^{\circ}\text{C}$. Der Temperaturverlauf war bei manchen Versuchstieren eingipflig, bei anderen ausgesprochen zweigipflig, was auch von STÜNZI und GREVEL (1973) und TUCH, WITTE und WÜLLER (1974) beobachtet worden war und nach Meinung letzterer den Hinweis auf eine zyklisch ablaufende Infektion geben kann.

Die hämatologischen Untersuchungen ergaben das Auftreten einer Leukopenie, wie sie von WOLFE und GRIESEMER (1966) erwähnt worden war. Eine Leukozytose, wie sie WARD und PEDERSON (1969) sowie TUCH, WITTE und WÜLLER (1974) feststellten, trat nicht auf. Wie auch von STÜNZI und GREVEL (1973) beobachtet, waren die Werte der Glutamat-Pyruvat-Transaminase und Glutamat-Oxalacetat-Transaminase erhöht, die der alkalischen Phosphatase dagegen erniedrigt, was einen Hinweis auf ausgeprägte Leberveränderungen gab.

Pathologisch-anatomisch lagen eine fibrinöse Entzündung des parietalen und viszeralen Peritoneums vor, die sich auch auf die Organserosa und die subserösen Parenchymschichten ausdehnte, disseminierte Nekrosen in Leber, Milz und Pankreas sowie eine starke Exsudation in die Bauchhöhle.

Die Anzüchtung des Erregers ließ sich außer in Katzen weder in kleinen Labortieren noch in Zellkulturen von Katzenorganen und embryonierten Hühnereiern durchführen. Dabei ist in Betracht zu ziehen, daß in dem einen oder anderen Wirtssystem eine Virusvermehrung stattfinden könnte, die ohne das Auftreten eines zytopathischen Effektes bzw. pathologischer Veränderungen einhergeht. Das Fehlen von Nachweismöglichkeiten für die Antigene des FIP-Erregers verhindert eine eindeutige Aussage zur Diagnose. Deshalb wurde versucht, unter Verwendung der Immunfluoreszenz, der Komplementbindungsreaktion sowie der Immundiffusion eine diagnostische Methode zu finden.

Voraussetzung für eine spezifische, serologische Diagnostik ist das Vorhandensein eines hochwertigen Immunserums gegen die Antigene des FIP-Erregers. Die Verwendung von Katzenseren, die im Spätstadium der Erkrankung gewonnen wurden, erscheint weder für die Immunfluoreszenztechnik noch für einen Nachweis mit der Komplementbindungsreaktion ausreichend zu sein. Die negativen Ergebnisse mit beiden Methoden lassen darauf schließen, daß im Verlauf einer akuten Erkrankung eine unzureichende Antikörperbildung stattfindet.

Für die Herstellung eines Immunserums in Kaninchen und Meerschweinchen boten sich zwei Wege an. Zum einen wurden die Tiere mit infektiösen Organverreibungen aus Leber und Netz immunisiert. Dabei war allerdings mit einer intensiven Ausbildung von Antikörpern auch gegen normale Gewebskomponenten der Katze zu rechnen. Deshalb erfolgten zum anderen Immunisierungen mit partiell gereinigten, infektiösen Leberverreibungen, die dafür in einer Sepharose 4B K 26/100 Säule (Pharmacia) fraktioniert wurden. Das zur Immunisierung verwendete Material befand sich in den Fraktionen des ersten und zweiten Peaks.

Positive Ansätze für eine serologisch-diagnostische Methode ließen die Ergebnisse der Immundiffusion nach Ouchterlony erkennen. Hierbei erwiesen sich die Kaninchen-Immunseren hochwertiger als die Meerschweinchen-Immunseren. Das beste

Kaninchen-Immunserum entstand durch die Immunisierung eines Tieres mit unbehandelter, infektiöser Leberverreibung. Das nicht abgesättigte Serum zeichnete in einer Vielzahl von Banden gegen die Normal-Antigene der Katze. Zusätzlich war bei dem Versuchsansatz mit Leber- und Netzverreibungen sowie Exsudaten an FIP erkrankter Tiere eine Präzipitationslinie ausgebildet, die sich von den übrigen Banden unterschied. Sie konnte als spezifisch für die FIP angesehen werden, da sie gegen infektiöse und nicht infektiöse Exsudate zeichnete und die Präzipitationslinien gegen Katzen-Normalserum und den Seren der erkrankten Katzen schnitt sowie gegen infektiöse Netzverreibungen ausgebildet war und nicht in die Linien der Normal-Netzverreibung überlief. Nach Absättigung des Immunserums entstand eine Reduktion der Präzipitatbildungen. Es verblieb aber eine spezifische Präzipitationsbande zwischen dem abgesättigten Serum und infektiösen Leber- sowie Netzverreibungen, die in den Kontrollen nicht nachweisbar war.

Die anfänglichen Probleme im Nachweis spezifischer Präzipitationslinien in der Immundiffusion sind auf die Eigenschaften des Antigens zurückzuführen. Zunächst wurde versucht, das Antigen elektrophoretisch aufzutrennen. Dies führte zu keinen eindeutigen Ergebnissen, da nach Absättigung der Seren keine oder kaum erkennbare, nicht zu interpretierende Präzipitationsbögen auftraten. Erst nach Detergenzbehandlung ließen sich in der Immundiffusion nach Ouchterlony FIP-spezifische Antigen-Komponenten aufzeigen. Eine zweite Schwierigkeit liegt in der Gewinnung von Immunseren mit infektiösem Katzen-Antigen. Dabei besteht bei den durchgeführten Absättigungsverfahren die Gefahr der unspezifischen Adsorption und eine damit verbundene generell schwächere Ausbildung auch von spezifischen Banden. Ferner kann damit gerechnet werden, daß, wenn es sich bei dem zur Immunisierung verwendeten Erreger um ein Coronavirus handelt und damit die infektiösen Partikeln wirtseigene Komponenten enthalten, zusätzlich eine erhebliche Verminderung der

spezifischen Reaktion im Verlauf der Absättigung auftritt.

Eine Ausweichmöglichkeit in der Diagnostik der FIP wäre gegeben, wenn die von BRADBURNE (1970) gemachten Beobachtungen über serologische Beziehungen verschiedener Virusarten der Corona-Gruppe auch für den Erreger der FIP zutreffen würden. Bei Kreuzreaktionsversuchen mit Transmissible Gastroenteritis-Virus-Antigen und -Antiserum zeichneten in der Immundiffusion jedoch die Anti-TGE-Seren nicht gegen FIP-Antigene und die gegen FIP gerichteten Immunseren nicht gegen TGE-Antigen.

Mit Ausnahme der Feliden ist bisher kein anderes Wirtssystem für das FIP-Virus gefunden worden. Für die Diagnostik der FIP erscheint der Immundiffusionstest als am erfolgversprechendsten. Der Nachteil, der sich bei der Herstellung der Immunseren unter Verwendung von Virusantigen aus infizierten Katzen ergibt, könnte in weiteren Untersuchungen durch Immunisierung mit besser gereinigtem Antigen vermindert werden. Damit wäre die Immundiffusion eine erste serologische Methode für die Diagnose der Felinen Infektiösen Peritonitis.

V. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschreibt Übertragungs- und Anzüchtungsversuche mit dem Erreger der Feline Infektiösen Peritonitis (FIP) und untersucht einige Möglichkeiten der serologischen Diagnose dieser Erkrankung.

Von zwei FIP-verdächtigen Katzen gelang nur mit einem Exsudat die Übertragung der FIP auf eine andere Katze. Weitere Übertragungsversuche auf Katzen gelangen stets mit Leber- und Netzverreibungen; Exsudat erwies sich nur in zwei von acht Fällen als infektiös. Es behielt seine Infektiosität nach Ammoniumsulfatfällung, verlor sie jedoch nach Chloroformbehandlung. Intraperitoneale Applikation eines Mykoplasmenisolats aus einem Exsudat führte nicht zur FIP. Klinische Erscheinungen sowie pathologische Veränderungen entsprachen den Darstellungen in der Literatur.

Übertragungsversuche auf Hamster und Säuglingsmäuse sowie Anzüchtungsversuche in Zellkulturen und embryonierten Hühnereiern gelangen nicht. Mit FITC-konjugiertem Katzen-Serum war ein fluoreszenzserologischer Nachweis von Virusantigenen in Zellkulturen nicht möglich. Die Komplementbindungsreaktion mit verschiedenen Katzen-Seren und infektiösem Leberantigen verlief negativ.

Zur Gewinnung von Immunseren wurden Kaninchen und Meerschweinchen mit infektiösen Leber- und Netzverreibungen, infektiösem und nicht infektiösem Exsudat sowie Gel-chromatographisch getrennten, infektiösen und nicht infektiösen Leberverreibungen immunisiert. Immundiffusionstests ohne Detergenzbehandlung des Antigens ließen keine gesicherte Aussage über den Nachweis eines FIP-spezifischen Antigens zu. Erst nach Zusatz von Detergenz zu Antigenen und Agar bildeten sich in der Immundiffusion nach Ouchterlony Präzipitationslinien insbesondere

zwischen einem Kaninchen-Immunserum und Exsudat, Netz- sowie Leberverreibung aus, die als FIP-spezifisch angesehen werden konnten. Unter Verwendung von besser gereinigtem FIP-Antigen für die Gewinnung spezifischer Immunseren könnte die Immun-diffusion eine serologische Methode für die Diagnose der FIP darstellen.

VI. Summary

Transmission and isolation experiments with the causal agent of the Feline Infectious Peritonitis (FIP) are described. Possibilities for the serological diagnosis of the disease were investigated.

Only one exudate of two probably FIP infected cats was infectious for another cat. In further experiments transmission was always successful with homogenated liver and omentum, whereas only two of eight exudates were infectious. Infectious exudate remained infectious after precipitation with ammoniumsulfate, but lost its infectivity after treatment with chloroforme. An isolate of mycoplasma from an exudate was not infectious. Clinical signs and pathological findings resemble those presented in the literature.

Experimental infections of hamster and baby-mice failed. No virus could be isolated in tissue cultures or in embryonated eggs. Detection of virus antigen in tissue cultures with FITC-conjugated cat serum was not possible. The complement fixation test with different cat sera and infectious liver antigen showed no positive results.

Rabbits and guinea pigs were immunized with infectious homogenates of liver and omentum, infectious and non infectious exudates, and infectious and normal liver homogenates separated by gelchromatography. Immunodiffusion without detergent treatment of antigens gave no evidential proof of FIP specific antigens. Only when detergent was added to antigens and agar, the immunodiffusion of Ouchterlony was successful. Precipitation lines, which can be considered as FIP specific, were seen especially between one rabbit serum and exudate, and homogenates of liver and omentum. Better separation of the FIP antigen and its use for antisera preparation could render the immunodiffusion to a valuable test for the diagnosis of FIP.

VII. Literaturverzeichnis

- | | |
|---|---|
| Baumann, R. | Pseudomyxoma peritonaei (Peritonitis chronica myxomatosa) bei einer Katze. Wien.tierärztl.Mschr. <u>47</u> , 373-374 (1960) |
| Becker, W.B.,
K. McIntosh,
J.H. Dees,
R.M. Chanock | Morphogenesis of avian infectious bronchitis virus and a related human virus (strain 229E). J.Virology <u>1</u> , 1019-1027 (1967) |
| Beer, J. | Infektionskrankheiten der Haustiere. Teil 1. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena (1974) |
| Bickford, A. | Zit. nach Hardy und O'Reilly (1969) |
| Bistner, S.I. | Ocular manifestation of systemic disease. Vet.Clin.North Amer. <u>3</u> , 467-490 (1973) |
| Bradburne, A.F. | Antigenic relationships amongst Corona-viruses. Arch.Virusforsch. <u>31</u> , 352-364 (1970) |
| Colby, E.D.,
R.J. Low | Feline infectious peritonitis. Vet.Med./Small Anim.Clin. <u>65</u> , 783-786 (1970) |
| Colgrove, D.J.,
A.J. Parker | Feline infectious peritonitis. J.Small Anim.Pract. <u>12</u> , 225-232 (1971) |
| Cotter, S.M.,
C.E. Gilmore,
C. Rollins | Multiple cases of feline leukemia and feline infectious peritonitis in a household. J.Amer.Vet.Med.Ass. <u>162</u> , 1054-1059 (1973) |
| Cotter, S.M.,
W.D. Hardy,
M. Essex | Association of feline leukemia virus with lymphosarcoma and other disorders in the cat. J.Amer.Vet.Med.Ass. <u>166</u> , 449-454 (1975) |
| Disque, D.F.,
M.T. Case,
J.A. Youngren | Feline infectious peritonitis. J.Amer.Vet.Med.Ass. <u>152</u> , 372-375 (1968) |
| Doherty, M.J. | Ocular manifestations of feline infectious peritonitis. J.Amer.Vet.Med.Ass. <u>159</u> , 417-423 (1971) |
| Eberstein, M. von | Ein weiterer Beitrag zur Pathologie der Tuberkulose von Hund und Katze. Vet.Med.Diss. Gießen (1967) |

- Feldmann, B.M.,
B.S. Jortner Clinico-pathologic conference.
J.Amer.Vet.Med.Ass. 144, 1409-1420 (1964)
- Feldmann, B.M.,
W.D. Hardy,
A.F. Schauffler Feline infectious peritonitis - by any
other name.
J.Amer.Vet.Med.Ass. 156, 520-522 (1970)
- Freudiger, U. Beobachtungen zur Epidemiologie und Klinik
der Tuberkulose des Hundes und der Katze.
Schweiz.Tierheilk. 98, 195-205 (1956)
- Freudiger, U. Übersicht über die wichtigsten Infektions-
krankheiten der Katze.
Kleintierpraxis 16, 134-142 (1971)
- Garrick, J. Feline infectious peritonitis and auto-
immunity.
J.Amer.Vet.Med.Ass. 160, 370-372 (1972)
- Gaskin, J.M.,
J.H. Gillespie Detection of feline syncytia-forming virus
carrier state with a microimmunodiffusion
test.
Amer.J.Vet.Res. 34, 245-247 (1973)
- Gelatt, K.N. Iridocyclitis-panophthalmitis associated
with feline infectious peritonitis.
Vet.Med./Small Anim.Clin. 68, 56-57 (1973)
- Gruber, F. Studien zur Bestimmung der Immunglobulin-
spiegel am Beispiel normaler, gnotobioti-
scher und konventionalisierter Küken.
Vet.Med.Diss. München (1968)
- Hackett, A.J.,
J.S. Manning Comments on feline syncytia-forming virus.
J.Amer.Vet.Med.Ass. 158, 948-954 (1971)
- Hardy, W.D. Immunodiffusion studies of feline leukemia
and sarcoma.
J.Amer.Vet.Med.Ass. 158, 1060-1069 (1971)
- Hardy, W.D.,
A.I. Hurvitz Feline infectious peritonitis: experimen-
tal studies.
J.Amer.Vet.Med.Ass. 158, 994-1002 (1971)
- Hardy, W.D.,
W.J. O'Reilly Clinico-pathologic conference.
J.Amer.Vet.Med.Ass. 155, 1728-1733 (1969)
- Hardy, W.D.,
G. Geering,
L.J. Old,
E. de Harven,
R.S. Brodey,
S. McDonough Feline leukemia virus: occurrence of viral
antigen in the tissues of cats with
lymphosarcoma and other diseases.
Science 166, 1019-1021 (1969)

- Hartigan, P.J.,
P. Wilson Feline infectious peritonitis.
Irish Vet.J. 26, 8-10 (1972)
- Holliday, T.A. Clinical aspects of some encephalopathies
of domestic cats.
Vet.Clin.North Amer. 1, 367-379 (1971)
- Holzworth, J. Some important disorders of cats.
Cornell Vet. 53, 157-160 (1963)
- Horzinek, M. Kompendium der allgemeinen Virologie.
Verlag Paul Parey, Berlin u. Hamburg (1975).
Pareys Studentexte 4
- Ingham, B.,
D.W. Brentnall Acute peritonitis in a kitten associated
with Salmonella typhimurium infection.
J.Small Anim.Pract. 13, 71-74 (1972)
- Ingram, P.L. The occurrence of feline infectious
peritonitis in England.
Vet.Rec. 86, 632 (1970)
- Ingram, P.L. Feline infectious peritonitis and its
differential diagnosis.
J.Small Anim.Pract. 12, 301-306 (1971)
- Ishmael, J.,
J. McC. Howell Observations on the pathology of the
spleen of the cat.
J.Small Anim.Pract. 9, 7-13 (1968)
- Jones, B.R.,
G.G. Hogg Feline infectious peritonitis.
Austr.Vet.J. 50, 398-402 (1974)
- Kammermann, B.,
P. Würzner Klinisch-chemische Untersuchungen bei
gesunden Katzen und Katzen mit Leber-
erkrankungen.
Zbl.Vet.Med. A, 16, 229-239 (1969)
- Konishi, S.,
E. Takahashi,
M. Ogata Studies on feline infectious peritonitis
(FIP).
Jap.J.Vet.Sci. 33, 327-333 (1971)
- Loeb, W.F. Laboratory findings in feline infectious
peritonitis.
Mod.Vet.Pract. 51, 23 (1970)
- Love, D.N. Review of viral disease of cats.
Austr.Vet.J. 48, 467-471 (1972)
- Low, R.J.,
E.D. Colby
H.J. Covington,
K. Benirschke Report on the isolation of an agent from
cell cultures of kidneys from domestic
cats.
Vet.Rec. 88, 557-559 (1971)

- Mackey, L. Feline leukaemia virus and its clinical effects in cats.
Vet.Rec. 96, 5-11 (1975)
- Mayer, M.M., A.G. Osler, O.G. Bier, M. Heidelberger The activating effect of magnesium and other cations on the hemolytic function of complement.
J.Exp.Med. 84, 535 (1946)
- Mieog, W.H.W., J.H.M. Richter Feline infectious peritonitis.
Tijdschr.Diergeneesk. 96, 585-597 (1971)
- Montali, R.J., J.D. Strandberg Extraperitoneal lesions in feline infectious peritonitis.
Vet.Path. 9, 109-121 (1972)
- Osterhaus, A.D.M.E., M.C. Horzinek, D.J. Ellens Untersuchungen zur Ätiologie der Feline Infektiösen Peritonitis.
Berl.Münch.tierärztl.Wschr. 89, 135-137 (1976)
- Panel Report Mod.Vet.Pract. 52, 55-58 (1971)
- Report of the panel of the colloquium on selected feline infectious diseases.
J.Amer.Vet.Med.Ass. 157, 2043-2051 (1970)
- Parker, A.J. Learn to spot FIP.
Illinois Vet. 13, 14-16 (1970)
- Parodi, A., M. Fontaine, A. Brion, H. Tisseur, P. Goret Mycobacterioses in the domestic carnivora - present-day epidemiology of tuberculosis in the cat and dog
J.Small Anim.Pract. 6, 309-326 (1965)
- Pastoret, P.P., M. Gouffaux, M. Henroteaux Description et étude expérimentale de la péritonite infectieuse féline.
Ann.Méd.Vét. 118, 479-492 (1974)
- Poelma, F.G., J.C. Peters, W.H.W. Mieog, P. Zwart Infektiöse Peritonitis bei Karakal (Felis caracal) und Nordluchs (Felis lynx lynx). XII. Internat.Sympos. über die Erkrankung der Zootiere, Helsinki, 249-253 (1971)
- Potkay, S., J.D. Bacher, T.W. Pitts Feline infectious peritonitis in a closed breeding colony.
Lab.Anim.Sci. 24, 279-284 (1974)
- Riggs, J.L., L.S. Oshiro, D.O.N. Taylor, E.H. Lennette Syncytium-forming agent isolated from domestic cats.
Nature 222, 1190-1191 (1969)

- Robison, R.L. Feline fibrinous peritonitis.
Current Vet. Therapy III, Small Anim. Pract.
Kirk u. Saunders Company, Philadelphia.
583-584 (1968)
- Robison, R.L.,
J. Holzworth,
C.E. Gilmore Naturally occurring feline infectious
peritonitis: signs and clinical diagnosis.
J. Amer. Vet. Med. Ass. 158, 981-986 (1971)
- Rubin, L.F.,
J.L. Pote,
R. Cimprich Clinico-pathologic conference.
J. Amer. Vet. Med. Ass. 164, 630-634 (1974)
- Schalm, O.W. Veterinary hematology. 2. ed.
Lea u. Febiger, Philadelphia (1965)
- Scheidegger, J.J. Une microméthode de l'immuno-électro-
phorèse.
Int. Arch. Allergy 7, 103 (1955)
- Schultz, R.D.,
F.W. Scott,
J.R. Duncan,
J.H. Gillespie Feline immunoglobulins.
Infection and Immunity 9, 391-393 (1974)
- Scott, F.W. Feline syncytial virus.
J. Amer. Vet. Med. Ass. 158, 946-948 (1971)
- Sever, J.L. Application of a microtechnique to viral
serological investigation.
J. Immunol. 88, 320 (1962)
- Slauson, D.O.,
J.P. Finn Meningoencephalitis and panophthalmitis
in feline infectious peritonitis.
J. Amer. Vet. Med. Ass. 160, 729-734 (1972)
- Smith, H.A.,
T.C. Jones Veterinary pathology. 2. ed.
Lea u. Febiger, Philadelphia. 847 (1961)
- Smith, H.A.,
T.C. Jones,
R.D. Hunt Veterinary pathology. 4. ed.
Lea u. Febiger, Philadelphia (1972).
Repr. 1974
- Stevenson, R.G.,
S.E. Tilt,
J.G. Purdy Feline infectious peritonitis and pleurisy.
Canad. Vet. J. 12, 97-99 (1971)
- Stünzi, H. Zur Pathologie der Katzentuberkulose.
Schweiz. Arch. Tierheilk. 96, 604-611 (1954)
- Stünzi, H.,
V. Grevel Die ansteckende fibrinöse Peritonitis der
Katze.
Schweiz. Arch. Tierheilk. 115, 579-586 (1973)

- Theilen, G.H. The present status of the leukemia-sarcoma complex in man and lower animals. J.Amer.Vet.Med.Ass. 157, 1742-1752 (1970)
- Theilen, G.H. Discussion. J.Amer.Vet.Med.Ass. 158, 1002 (1971)
- Theilen, G.H.,
T.G. Kawakami,
D.L. Dungworth,
J.W. Switzer,
R.J. Munn,
J.B. Harrold Current status of transmissible agents in feline leukemia. J.Amer.Vet.Med.Ass. 153, 1864-1872 (1968)
- Tuch, K.,
K.H. Witte,
H. Wüller Feststellung der Felinen Infektiösen Peritonitis (FIP) bei Hauskatzen und Leoparden in Deutschland. Zbl.Vet.Med. B, 21, 426-441 (1974)
- Urbaneck, D. Leukose bei anderen Haussäugetieren. In: Handbuch der Virusinfektionen bei Tieren. Hrsg. von H. Röhrer. Bd. 5/1. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena. 175-197 (1969)
- Voss, H.,
G. Henneberg,
H. Herrmann,
H. Pichl,
H. Schulte-Querberg,
H. Werner Die Kopplung von Immunseren mit Fluoresceinisothiocyanat. Zbl.Bakt.I.Abt.Orig. 203, 249-276 (1967)
- Ward, B.C. Infectious feline peritonitis. Vet.Clin.North Amer. 1, 241-244 (1971)
- Ward, B.C.,
N. Pederson Infectious peritonitis in cats. J.Amer.Vet.Med.Ass. 154, 26-35 (1969)
- Ward, J.M. Feline infectious peritonitis. Calif.Vet. 23, 8-11 (1969)
- Ward, J.M. Morphogenesis of a virus in cats with experimental feline infectious peritonitis. Virology 41, 191-194 (1970)
- Ward, J.M. Feline infectious peritonitis. Current Vet.Therapy IV, Small Anim.Pract. Kirk u. Saunders Company, Philadelphia. 658-659 (1971)
- Ward, J.M.,
G.H. Theilen Generalized phlebitis and peritonitis in a kitten. Vet.Med./Small Anim.Clin. 64, 1052-1056 (1969)

- Ward, J.M.,
D.H. Gribble,
D.L. Dungworth
Feline infectious peritonitis:
experimental evidence for its multi-
phasic nature.
Amer.J.Vet.Res. 35, 1271-1275 (1974)
- Ward, J.M.,
R. Smith,
O.W. Schalm
Inclusions in neutrophils of cats with
feline infectious peritonitis.
J.Amer.Vet.Med.Ass. 158, 348 (1971)
- Ward, J.M.,
R.J. Munn,
D.H. Gribble,
D.L. Dungworth
An observation of feline infectious
peritonitis.
Vet.Rec. 83, 416-417 (1968)
- Watson, A.D.J.,
C.R.R. Huxtable,
A.M. Bennett
Feline infectious peritonitis.
Austr.Vet.J. 50, 393-397 (1974)
- Wilkinson, G.T.
Feline infectious peritonitis.
Vet.Rec. 86, 674 (1970)
- Wolfe, L.G.,
R.A. Griesemer
Feline infectious peritonitis.
Path.Vet. 3, 255-270 (1966)
- Wolfe, L.G.,
R.A. Griesemer
Feline infectious peritonitis: review
of gross and histopathologic lesions.
J.Amer.Vet.Med.Ass. 158, 987-993 (1971)
- Zook, B.C.,
N.W. King,
R.L. Robison,
H.L. McCombs
Ultrastructural evidence for the viral
etiology of feline infectious peritonitis.
Path.Vet. 5, 91-95 (1968)

Herrn Prof. Dr. E. Hellmann danke ich für die Überlassung des Themas dieser Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. P. Teufel für seine Hilfsbereitschaft bei der Planung der Versuche und seine stets freundlich gewährte Unterstützung bei der Erstellung der Arbeit.

Gleichzeitig möchte ich Herrn Dr. W. Becker für die Einweisung in das Arbeitsgebiet und seine Hilfe bei den Tierversuchen danken.

Auch gilt mein Dank Herrn Dr. O. Knorn und Herrn Dr. F. Gruber, die mich bei der praktischen Durchführung der Arbeit mit fachlichen Anregungen unterstützten.

Herrn U. Leinen danke ich für seine Hilfe bei der Herstellung der Fotografien.

Nicht zuletzt danke ich allen Mitarbeitern der Fachrichtung Mikrobiologie für ihre freundlich gewährte Hilfsbereitschaft.

L e b e n s l a u f

3.3.1949	geboren in Berlin
	Vater: Paul Kley
	Mutter: Margot Kley, geb. Fahrenson
1955 - 1961	Besuch der 6. Grundschule in Berlin-Kreuzberg
1961 - 1968	Besuch der Robert-Koch-Oberschule in Berlin-Kreuzberg
1968	Reifeprüfung
1968 - 1973	Studium an der Freien Universität Berlin, Fachbereich Veterinärmedizin
1970	Physikum
Mai 1973	3. Abschnitt der Tierärztlichen Prüfung
	Bestallung als Tierärztin
1973 - 1976	n.v. Fleischbeschautierärztin und Praxisvertretung in Berliner Kleintier- praxen

